RADIOIMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VORKOMMEN VON SERUMANTIKÖRPERN MIT B–STREP-TOKOKKEN=SPEZIFITÄT BEI SCHWANGEREN UND SÄUGLINGEN

INAUGURAL–DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von

CLAUS W. FREY

aus Friedberg

BONN 1980

RADIOIMMUNOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VORKOMMEN VON SERUMANTIKÖRPERN MIT B–STREP-TOKOKKEN=SPEZIFITÄT BEI SCHWANGEREN UND SÄUGLINGEN

INAUGURAL–DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von

CLAUS W. FREY

aus Friedberg

BONN 1980

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. H. Brandis
2. Gutachter: Priv.-Doz. Dr. Kaulhausen

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie
und Immunologie der Universität Bonn

Direktor: Professor Dr. H. Brandis

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Druck: Dissertationsdruck M. WEHLE, Hauptstr. 240
53305 Witterschlick; Tel. 0228/641113

Meinen Eltern und klinischen Lehrern

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	Einleitung	6
2.	Material und Methoden	10
2.1.	Material	10
2.1.1.	Nährmedien	10
2.1.2.	Pufferlösungen	11
2.1.3.	Reagenzgemische	12
2.1.4.	Radioaktive Isotope	12
2.1.5.	Gele für die Säulenchromatographie	13
2.1.6.	Humanseren	14
2.1.7.	Tierische Seren	14
2.1.8.	Geräte	14
2.2.	Methoden	15
2.2.1.	Antigenherstellung	15
2.2.2.	Antiserumherstellung	18
2.2.3.	Antiserum-Markierung mit ^{125}J	19
2.2.4.	Immunologische Untersuchungsmethoden	20
2.2.5.	Herstellung eines intrinsisch radioaktiv markierten B-Streptokokkenantigens	21
2.2.6.	Klinisch-chemische Untersuchungen	22
2.2.7.	Radioimmunologische Untersuchungen zum Nachweis spezifischer Antikörper gegen B-Streptokokken	22
2.2.8.	Kompetitiver Radioimmunassay	23
3.	Ergebnisse	25
3.1.	Prüfung der Spezifität des Kaninchen-hyperimmunserums	25
3.1.1.	Überwanderungselektrophorese	25
3.1.2.	Immundoppeldiffusion	27
3.1.3.	Immunelektrophorese	29
3.1.4.	Klinisch-chemische Untersuchungen	30
3.2.	Reinheit und Spezifität des Anti-B-Streptokokkenkaninchenserums nach Ammoniumsulfatpräzipitation	31
3.2.1.	Immunelektrophorese	31

		Seite
3.3.	Spezifität und Reinheit der Gamma-Globulinfraktionen nach der Säulenchromatographie	32
3.3.1.	Immunelektrophorese	32
3.3.2.	Eiweißbestimmung	32
3.4.	Spezifität der Antigene	33
3.5.	Säulenchromatographie vor der ratioaktiven Markierung	33
3.6.	Markierungsprüfung der mit ^{125}J gekoppelten Antikörperfraktionen	34
3.7.	Säulenchromatographie zur Dokumentation der Trennung der ^{125}J-markierten Antikörperfraktion von freiem ^{125}J	35
3.8.	Antikörper gegen B-Streptokokken in Serumproben unausgewählter Schwangerer	35
3.9.	B-Streptokokkenantikörper in Seren von Säuglingen mit B-Streptokokken-Erkrankungen oder -besiedlung	38
4.	Diskussion	55
5.	Zusammenfassung	60
6.	Meßwerttabellen	61
7.	Literaturverzeichnis	83
8.	Lebenslauf	91

1. Einleitung

Streptococcus agalactiae wurde bereits 1884 von Nocard und Mollereau (zit. nach 9,52) als Erreger des "gelben Galts", einer bovinen Eutererkrankung, die zum Versiegen der Milchproduktion führt, unter veterinärmedizinischen Gesichtspunkten beschrieben.
Die serologische Gruppeneinteilung der Streptokokken mittels des Präzipitationsverfahrens durch Lancefield (45, 46) ab 1934 führte zu der heute gebräuchlichen Bezeichnung "Streptokokken der serologischen Gruppe B" (trivial: B-Streptokokken). In den folgenden Jahren wurde die humanmedizinische Bedeutung dieser Mikroorganismen erkannt.
1938 berichtete Fry (27) über sieben Fälle von Puerperalinfektionen. Seit dieser Zeit erschienen immer wieder vereinzelte Berichte über Wundinfektionen, Harnwegsinfekte, Osteomyelitis, Endocarditis und Meningitis durch B-Streptokokken bei Erwachsenen (Lit. zit. n. 5o). 1942 beschrieben Kirby und Rantz (55) Infektionen mit B-Streptokokken und wiesen auf deren Bedeutung hin. In einer Fallstudie unterstreichen Hood et al. (36) 1961 die Bedeutung der B-Streptokokkeninfektion bei Mutter und Neugeborenem. Einen weiteren klinischen Erfahrungsbericht, insbesondere über B-Streptokokkeninfektionen von Müttern und Neugeborenen, legten 1964 Eickhoff et al. (2o) vor. In einem Bericht vor dem Pediatric Pathology Club in Cincinnati fanden Franciosi et al. (24) 1972 B-Streptokokken als häufigste Erreger neonataler Infektionskrankheiten im Childrens Hospital in Denver. Diese Autoren beschrieben gleichzeitig das symptomlose Vorkommen der Erreger in der Vagina und in der männlichen Urethra.
Eine retrospektive Studie der Inzidienz verschiedener ursächlicher Faktoren der Meningitis bei Neugeborenen und Säuglingen bis zum 6o. Lebenstag zwischen 1967 und 1972 von Yow (65) in Houston offenbarten eine starke

Zunahme der B-Streptokokken-bedingten Meningitis etwa vom Jahre 197o an. Diese Angaben werden durch Untersuchungen anderer Autoren bestätigt (3, 8, 19, 22, 24, 32, 35, 51, 53, 54, 56, 65). Über die weitere Bedeutung und Zunahme der neonatalen B-Streptokokkeninfektionen wird 1972 von Franciosi et al (24) sowie 1974 von Howard und McCracken (38) und 1975 von Horn et al. (37) berichtet. Die zunehmende Bedeutung der B-Streptokokken in der Humanmedizin speziell bei perinatalen Infektionen spiegelt sich jedoch nicht nur im amerikanischen, sondern seit etwa 1943 auch im internationalen (1o, 14, 24, 32, 42, 47, 49, 56) und deutschen Schrifttum (52, 59) wider. 1973 berichten Niesen et al. (52) über die Pathogenität der B-Streptokokken in der Peri- und Neonatalperiode sowie Beck et al. (zit. nach 52) über die Genitalbesiedlung mit B-Streptokokken bei Diabetikerinnen. Zilleken (zit. nach 5o) beschreibt 1974 die Häufigkeit von B-Streptokokken in Vaginalabstrichen von Schwangeren und ihre Übertragung auf das Neugeborene.

Mit zunehmender Bedeutung der B-Streptokokkeninfektionen Neugeborener ergaben weitere serologische Untersuchungen von Lancefield (45, 46) zusammen mit klinischen Fallstudien eine Unterscheidung in zwei Krankheitstypen, benannt nach ihrem altersbezogenen Beginn.

Der "early-onset"-Typ tritt in den ersten fünf Lebenstagen auf. Er steht in enger Korrelation mit prädisponierenden mütterlichen Faktoren und resultiert aus einer intrapartalen Übertragung der Erreger aus dem mütterlichen Genitaltrakt.

Klinisch ist die "early-onset"-Form durch Sepsis und Pneumonie charakterisiert. Serologisch weist dieser Erkrankungstyp das Vorkommen von B-Streptokokken mit den typspezifischen Polysaccharidantigen Ia, Ib, II und III auf.

Im Gegensatz dazu ist der sogenannte "late onset"-Typ klinisch durch das Auftreten nach dem zehnten Lebenstag

ausgezeichnet, der häufig mit eitriger Meningitis einhergeht.
Serologisch kommt hier das B-Streptokokken-spezifische Polysaccharidantigen vom Typ III in 9o % der Fälle vor.
Das rege Interesse an den zunehmenden Infektionen mit B-Streptokokken, die steigende Kenntnis über Kolonisation und Krankheitsentstehung und die ubiquitäre Problematik speziell für die Perinatologie drängen auf die Beantwortung folgender Fragen: Wo sind die Ursachen für die steigende Infektionsinzidenz zu suchen? Wo liegen die Infektionsquellen? Wie entsteht der "late-onset"-Typ? In welcher Form beeinflussen kindliche und/oder mütterliche Immunität das Krankheitsgeschehen? Welche praktischen Methoden lassen sich zum Infektions- oder Erkrankungsnachweis sowie zur Prävention durchführen? Neben Studien über das Erregervorkommen im Urogenitaltrakt betroffener Mütter und Väter sowie beim Pflegepersonal erlangen immunologische Gesichtspunkte eine in den letzten Jahren zunehmende Bedeutung in Bezug auf den Pathomechanismus der neonatalen B-Streptokokkeninfektionen. Grundlage dieser Untersuchungen ist die Behauptung einer Abhängigkeit der Infektionen Neugeborener vom mütterlichen Antikörperspiegel gegen B-Streptokokken. Untersuchungen zu diesem Problem wurden seit 1975 vornehmlich von den amerikanischen Autoren Baker, Kasper und Mitarbeitern (1 - 8) sowie Wilkinson (61 - 64) betrieben.
Als Grundlage der eigenen Versuche diente besonders die 1977 publizierte Arbeit von Baker und Kasper (3) über die Beziehung zwischen dem Mangel an mütterlichen B-Streptokokken-spezifischen Antikörpern und der Empfänglichkeit der Neugeborenen für die Infektionen mit B-Streptokokken. Diese Autoren beschreiben die quantitative Bestimmung von Antikörpern im Serum mittels eines radioaktiven Antigen-bindenden Assays. Das Fehlen mütterlicher Antikörper wird in Relation zur Erkrankungssymptomatik bei den entsprechenden Neugeborenen mit dem "early-onset" - oder "late-onset"-Typ gesetzt.

Unser Ziel war es, in Anlehnung an diese Arbeit einen klinisch relevanten, B-Streptokokken-spezifischen und einfach durchführbaren Radioimmunoassay zu entwickeln und die bislang vertretende Auffassung über den Zusammenhang zwischen fehlenden mütterlichen Antikörpern und Neugeboreneninfektionen zu überprüfen.

2.Material und Methoden

2.1.Material

2.1.1.Nährmedien:

a) Hammelblutagar:

1o,o g	Lab-Leuco Pulver	(Oxoid)
1o,o g	Pepton	(Oxoid)
5,o g	NaCl	(Merck)
15,o g	Agar Nr. 3	(Oxoid)
1o %	Hammelblut	
Aqua dest. ad 1ooo ml		

Die Agarsuspension wurde im Dampftopf bei 1oo° C gelöst, der pH-Wert auf 7,O eingestellt und bei 121° C 3o min autoklaviert. Anschließend wurde das Hammelblut dazugegeben, die sterile Lösung zu gleichen Mengen in Kulturschalen gegossen und zum Erkalten gebracht.

b) Todd-Hewitt Bouillon (modifiziert nach Baker et al.(4):

3 g	Rinderherzextrakt	(Difco)
2o g	Neopepton	(Difco)
2 g	Dextrose	(Difco)
2 g	NaCl	(Merck)
2,5 g	Na_2CO_3	(Merck)
O,4 g	Na_2HPO_4	(Merck)
Aqua dest. ad 1ooo ml		

Dieses Medium wurde mit der achtfachen Na_2HPO_4-Menge und der vierfachen Dextrosemenge modifiziert (5, 11, 46, 49). Da das Standardmedium unter Wachstumsbedingungen seinen Ausgangs-pH-Wert nach 12 h Inkubation von pH 7,4 auf pH 5,9 verändert und sich die antigenen Eigenschaften der Polysaccharidantigene der B-Streptokokken bei Säuerung des Kulturmediums vermindern, wurde die Pufferkapazität heraufgesetzt,wodurch der pH-Wert nach 12 h über pH 6,5 lag.

c) Brain-Heart-Dextrose Bouillon (BHI):

2oo	g Kalbshirnextrakt	(Difco)
25o	g Rinderherzextrakt	(Difco)
1o	g Proteose Pepton	(Difco)
1o	g Bacto Dextrose	(Difco)
5	g NaCl	(Merck)
2,5	g Na_2HPO_4	(Merck)

Aqua dest. ad 1ooo ml

In Anlehnung an 2.1.1.b wurde dieses Nährmedium ebenfalls mit der achtfachen Na_2HPO_4 - und vierfachen Glucosemenge modifiziert.

d) Agarosegel:

1 g Agarose (Behring-Werke)
auf 1oo ml Barbitalpuffer pH 8

Die Agarose wurde im Dampftopf bei 1oo° C gelöst und der pH-Wert nach Abkühlen auf Raumtemperatur auf pH 8,O eingestellt.

2.1.2. Pufferlösungen:

a) Barbitalpuffer pH 8:

2o	ml 1 N HCL	(Merck)
9,8	g Na-Barbital	(Merck)
6,5	g Na-Azetat	(Merck)
O,1	g Na-Azid	(Merck)

Aqua dest. ad 1ooo ml

b) O,1 M Phosphatpuffer pH 7:

4,5	g KH_2PO_4	(Merck)
11,94	g Na_2HPO_4	(Merck)
1,95	g NaCl	(Merck)

Aqua dest. ad 1ooo ml

c) 0,01 M Tris-HCl Puffer:

1,21	g Tris	(Merck)
10,1	g NaCl	(Merck)
0,2	g NaN_2	(Merck)
26,8	g HCl	(Merck)

Aqua dest. ad 1ooo ml

d) 0,9 % NaCl Lösung pH 7,4:

9	g NaCl	(Merck)

Aqua dest. ad 1ooo ml

Die Salzlösungen wurden bis zur vollständigen Lösung der Bestandteile auf einen Magnetrührer gebracht und anschließens autoklaviert. Je nach Anwendung wurde die 0,1 M Phosphatpufferlösung mit 2o % Polyäthylenglykoll und 1o % fötalem Kälberserum modifiziert.

2.1.3. Reagenzgemische:

a) Gesättigte $(NH_4)_2So_4$-Lösung:

Auf 1ooo ml Aqua dest. wurden bis zum Ausfallen Ammoniumsulfatkristalle gegeben.

b) HCL-Pepsin-Lösung:

25 mg Pepsin (kristallin; vom Rind; Serva) auf 25 ml 0,01 N HCL. Anschließend auf pH 2 einstellen.

2.1.4. Radioaktive Isotopen:

a) ^{14}C:

Radiochemische Spezifikationen (NEN)
CH_3COONa (1-^{14}C)
Konzentration: 1,0 mCi - 1,4 mg in 1,0 ml
Spez. Aktivität: 59 mCi / mmol
Lösungsmittel: wässrige Äthanollösung

b) ^{3}H:

Radiochemische Spezifikationen (NEN)
CH_3COONa (2-^{3}H) in wässriger Äthanollösung
Konzentration: 5,0 mCi - 0,6 mg in 0,5 ml
Spez. Aktivität: 685,9 mCi / mmol

c) ^{125}J:

Radiochemische Spezifikationen (Amersham-Buchler)
Als NaJ in NaOH pH 8 - 11
2 mCi / 2o ml

2.1.5. Gele für die Säulenchromatographie (17, 18, 31) :

a) Sepharose 4 B (Pharmacia):

Einwaage auf eine Säule 2,5 x 100 cm:
45o g Sepharose Feuchtgewicht.
Die Sepharose wurde dreimal mit 0,01 M Tris-Puffer, pH 8,0, gewaschen und auf 1ooo ml Tris-Puffer gegeben.

b) Sephadex G 75 (Pharmacia):

5o g Sephadex Trockensubstanz wurden in 75o ml 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,0, gelöst und 24 h zum Quellen abgestellt.
(Berechnet auf eine 2,5 x 100 cm Säule)
(1 g Sephadex = 12-15 ml Gel)

c) Sephadex G 2oo (Pharmacia):

3o g Sephadex Trockensubstanz wurden in 78o ml Tris-Puffer, pH 8,0, gelöst und 24 h zum Quellen abgestellt.
Alle Gele wurden zur Konservierung mit 0,1 g / dl Natriumazid versetzt.

2.1.6. Humanseren:

Zur Untersuchung auf Antikörper gegen Streptokokken der serologischen Gruppe B nach Lancefield wurden folgende Serumproben verwendet:

a) Von unausgewählten Schwangeren.
b) Von Neugeborenen und Säuglingen, die mit B-Streptokokken besiedelt oder an einer B-Streptokokkeninfektion vom "early-onset"-Typ oder "late-onset"-Typ erkrankt waren, sowie einem Teil ihrer Mütter.
c) Eigenes Nativserum.

2.1.7. Tierische Seren:

a) Anti-B-Streptokokken-Serum vom Kaninchen (eigene Herstellung)
b) Anti-B-Streptokokken-Serum vom Kaninchen (Institut Pasteur)
c) Anti-Human-Serum von Kaninchen und Pferd (Behring-Werke)
d) Anti-Kaninchen-Serum von der Ziege (Behring-Werke)
e) Anti-Kaninchen-Globulin von der Ziege (Behring-Werke)
f) Anti-Humanglobulin (Medac)
g) FITC-markiertes Antikaninchen-Globulin (Behring-Werke)

2.1.8. Geräte:

a) Zur Säulenchromatographie:

Pharmacia Chromatographiesäulen 2,5 x 100 cm
LKB Ultrorac Fraction Collector und Uvicord Absorptiometer mit Schreiber

b) Zum Radioimmunassay (RIA):

Beckman LS 250 Liquid Scintillation System mit Bohrlochmeßgeometrie für Alpha- und Beta-Strahler.
Zur Messung von Gammastrahlen wurden Zinsser Gammavials mit einer Ausbeuteminderung von 50 % verwendet.
Kontron Gamma Counting System MR 252 mit Bohrlochmeßgeometrie.

c) Zentrifugen:

Häreus Christ Kühlzentrifuge (Cyrofuge 6 - 6)
Eppendorfmikroküvettenzentrifuge
Ultrazentrifuge Beckman L/L 2
Laborzentrifuge

d) Scanner:
Packard Radiochromatogram Scanner

e) Photometer:

Eppendorf Photometer 141101
Zeiss Spektralphotometer

f) Mikroskope:

Zeiss Fluoreszenzmikroskop

2.2. Methoden:

2.2.1. Antigenherstellung: (3, 5, 6, 7, 29, 41, 46,61)

a) Ganzzellantigen zur Kaninchenimmunisierung (3):

Zur Herstellung des Ganzzellantigens wurde der Streptokokkenstamm Nr. 6255 der serologischen Gruppe B Typ III nach Lancefield verwendet. Dieser Stamm wurde auf Hammelblutagarplatten überimpft und im Kerzentopf bei 37° C 24 h inkubiert. Je eine Kolonie wurde in 6 ml Brain Heart-Dextrose-Bouillon (BHI) gebracht und bei 37° C 24 h im Schüttelwasserbad inkubiert. Zur endgültigen Anzüchtung wurden je 6 ml der Vorkultur auf je 5oo ml BHI-Medium in einem Erlenmeyer-Kolben 24 h bei 37° C im Schüttelwasserbad inkubiert.
Zur Keimzahlbestimmung wurde eine Verdünnungsreihe der Keimsuspension in NaCl-Lösung angelegt und je O,2 ml auf Hammelblutagar ausgesät. Nach Bebrütung waren kleine graue Kolonien mit trübem Hämolysehof gewachsen. Mikroskopisch zeigten sich grampositive Kokken in kurzen Ketten. Die Keimzahlbestimmung ergab 4 x $1o^7$ koloniebildende Einheiten pro ml.

Zur Zellgewinnung wurde die BHI-Bouillon-Kultur mit 4500 UPM 2o Min. bei + 4°C zentrifugiert und der Überstand verworfen. Das Sediment mit einem Feuchtgewicht von 2 g wurde fünf Mal mit steriler O,9 %iger NaCl-Lösung gewaschen und das letzte Sediment in 4o ml resuspendiert. Nach Hitzeinaktivierung der Zellen im Wasserbad bei 56°C über eine Stunde erfolgte eine weitere Aufschließung des resuspendierten Sediments mit 5o ml einer O,O1 N HCL-Pepsin-Lösung über 2 Stunden bei 37°C im Wasserbad. Der Proteinverdauungsvorgang wurde durch eine pH-Wert-Neutralisierung mit 1 N NaOH auf pH 7 unterbrochen, die Suspension anschließens erneut fünf Mal mit O,9 %iger NaCl-Lösung gewaschen, um Protein- und Enzymreste vollständig zu entfernen. Die Überstände wurden verworfen.
Das inaktivierte, enzymatisch gereinigte B-Streptokokken-Sediment wurde in 4o ml O,9 % NaCl-Lösung aufgenommen,resuspendiert, zu 5 ml-Portionen in sterile Zentrifugenröhrchen abgefüllt und angefroren.

b) Ganzzellantigen als stationäre Phase im RIA (3):

Die Herstellung dieses B-Streptokokkenantigens verlief nahezu identisch mit den unter a) beschriebenen Arbeitsweisen.

Der Unterschied bestand darin, daß es sich hier um ein polyvalentes B-Streptokokkenantigen handelte, damit auch Antikörper gegen Subtypen erfasst werden können. Eingesetzt wurden die B-Streptokokkenstämme 6255, 794, 824, 1106, 1117, 1123, 1917 aus der Sammlung des Institutes. Jeder Stamm wurde zu einer Hauptkultur von 5oo ml BHI-Medium verarbeitet und die Sedimente wie oben gereinigt.

c) Autoklavierantigen für Überwanderungselektrophorese (ÜEP) und RIA (29, 46):

Kulturen des B-Streptokokkenstammes 6255 wurden in Todd-Hewitt Bouillon (THB) angezüchtet und wie vorher angegeben verarbeitet. Die Feuchtmasse ergab 1,25 g Bakterien. Das gewaschene Bakteriensediment wurde einer HCL-Extraktion

unterzogen. 10 g Bakterienmasse wurden in 1oo ml 0,2 N HCl pH 2 im kochenden Wasserbad 1o min bei 96°C unter ständigem Rühren erhitzt. Anschließend wurden Zellbestandteile bei 4500 UPM 2o min in der Kühlzentrifuge abgetrennt und der Überstand gesammelt. Das Sediment wurde diesem Extraktionsverfahren zwei Mal unterworfen, wobei immer der Überstand gesammelt wurde. Das letzte Sediment wurde verworfen. Alle drei Extrakte wurden anschließend mit 1 N NaOH auf pH 7 neutralisiert. Jeder Extrakt wurde getrennt nach folgendem Schema weiterverarbeitet: Der Neutralisation folgte die Präzipitation mit 4 Vol absolutem Äthanol bei + 4°C im Kühlschrank über 4 Stunden. Nach dem Zentrifugieren wurde das Sediment in 1o ml 9 % NaCl-Lösung aufgenommen und die drei parallel verarbeiteten Extrakte der Überwanderungselektrophorese unterzogen. Als Antiserum diente B-Streptokokken-spezifisches Kaninchenserum (Institut Pasteur). Die antigenhaltigen Extrakte wurden weiterverarbeitet. Der enzymatischen Reinigung mit DNAse (0,1 g/ml) und RNAse (0,5 g/ml) über drei Stunden bei 37°C im Wasserbad folgte eine Inkubation über 2 h mit 25 ml einer 0,01 N-Pepsin-HCl-Lösung bei 37°C im Wasserbad. Jede Probe wurde mit 1 N NaOH auf pH 7 eingestellt und 24 Stunden gegen 0,9 %ige NaCl-Lösung dialysiert. In dieser Zeit wurde die Dialysierflüssigkeit drei Mal gewechselt.

Weitere Proteinrückstände sollten durch Phenolextraktion mit konzentrierter Phenollösung v/v getrennt werden. Die nun in der Lösung verbleibenden Nucleinsäuren und Proteinbruchstücke wurden mit Dowex Anionenaustauscher 1-x 8 Cl entfernt (1/4 w/v 24 h bei Raumtemperatur auf dem Magnetrührer).

Anschließend wurde das Gemisch 2o min bei 4500 UPM in der Kühlzentrifuge bei +4°C getrennt und der Überstand durch ein Millipore-Filter Ø 0,45 µ filtriert.

Die drei Polysaccharidantigen-Extrakte wurden im Spek-

tralphotometer bei einer Wellenlänge von 26o oder 28o nm untersucht und ergaben keine Extinktion.
Als zusätzliche Reinheitsuntersuchung wurden die ÜEP zur Bestimmung der Anti-B-Streptokokkenspezifität und die Biuretmethode auf Eiweißgehalt (57) durchgeführt. Die Untersuchung auf Eiweiß ergab keinen Meßwert. Die CAF-Elektrophorese zeigte gleichermaßen einen negativen Befund auf Eiweißbestandteile. Der Glucosegehalt betrug nach der GOD-Perid-Methode (Boehringer) für Extrakt 1-3 je 5,9 mg/dl. Die Ausgangsvolumina aller drei Lösungen betrugen je 4o ml. Zur Konservierung wurden alle drei Extrakte lyophilisiert. Die Masse der Lyophilisate ergab insgesamt 288 mg Trockensubstanz. Je nach Bedarf wurde jeweils 1/3 der Menge in 2o ml 0,1 M Phosphatpuffer gelöst. Die Trockensubstanz wurde im Kühlschrank bei $+4^{o}C$ aufbewahrt. Die Überwanderungselektrophorese ergab spezifische Präzipitationsbanden mit Anti-B-Streptokokkenserum (Institut Pasteur) für alle drei Extrakte (12, 16, 34).

2.2.2. Antiserum-Herstellung (Anti-B-Streptokokken-Kaninchenserum) (3):

Drei Kaninchen wurde hitzeinaktiviertes und enzymatisch aufgeschlossenes B-Streptokokken-Ganzzellantigen in eine Ohrvene injiziert. Der Immunisierungsabstand betrug 5-6 Tage. Nach dreimaliger Injektion von 1 ml je Tier wurde die Dosis auf 1,5 ml gesteigert und im gleichen Abstand sechs Mal gespritzt. Nach der fünften und siebten Immunisierung wurde allen Tieren 1 ml Blut aus der Ohrvene abgenommen und in der ÜEP auf Anti-B-Streptokokkenantikörper untersucht. Das Tier mit der stärksten Präzipitationsbande in der ÜEP wurde nach der neunten Immunisierung mit einer Dosis Nembutal^{R} eingeschläfert und durch Herzpunktion entblutet. Die Gesamtblutmenge betrug 17o ml, die Serummenge 85 ml. Neben einer ÜEP zum Nachweis spezifischer Antikörper wurden die Seren mittels der Immundoppeldiffusion und der CAF-Elektrophorese sowie im Agglutinationstest untersucht. Die Methoden sind im Ab-

schnitt "Immunologische Untersuchungen" beschrieben. Die Verwendung der Kaninchenhyperimmunseren im Sandwich- und kompetitiven RIA erforderte eine Abtrennung und Reinigung der Immunglobuline, speziell der IgG- und IgM-Klasse.Dazu wurde das Nativserum einer Ammoniumsulfatpräzipitation nach folgendem Schema unterzogen: 5 ml Kaninchenserum wurden mit 2,5 ml gesättigter Ammoniumsulfatlösung gefällt und sofort bei 4500 UPM 2o min in der Kühlzentrifuge abzentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, das Sediment in 5 ml O,9 %iger NaCl resuspendiert und gesammelt. Um eine grössere Ausbeute an Immunglobulinen zu erhalten, wurde der Überstand einer dreimaligen Präzipitation unterzogen und erst der letzte Überstand verworfen. Die so erhaltenen Sedimente wurden jeweils resuspendiert und die Überstände verworfen. Das letzte Sediment wurde in 5 ml O,9 %iger NaCl aufgenommen, zur Entfernung der Ammoniumsalze gegen Aqua dest. 24 h dialysiert und die Dialysierflüssigkeit dreimal gewechsel.
Daran schloß sich die säulenchromatographische Reinigung mit Sephadex G 2OO (Pharmacia) an. Die Auslauffraktionen wurden in 1o ml-Portionen mittels eines LKB UltracFraction Collectors gesammelt und der Proteingehalt über ein parallel geschaltetes LKB UV-Absorptiometer mit angeschlossenem Schreiber registriert. Es ergaben sich jeweils zwei Peaks (IgG und IgM), deren zugehörige Fraktionen gesammelt und lyophilisiert wurden. Das Lyophilisat wurde ausgewogen, der Eiweißgehalt mittels der Biuretmethode (Merck) bestimmt, eine Immun- und eine CAF-Elektrophorese durchgeführt. Die Masse der Trockensubstanz ergab 4o mg, der Gesamteiweißgehalt mittels der Biuretmethode O,4 g/dl. Die Immunelektrophorese zeigte eine schwache IgG-Präzipitationsbande und die CAF-Elektrophorese einen IgG-Peak.

2.2.3. Antiserum-Markierung mit ^{125}J (11, 58):

Das Immunglobulinlyophilisat wurde in 1o ml O,1 M Phosphat-

pufferlösung pH 7,0 aufgenommen, in eine Glaselektrolysekammer gebracht und mit 2 mCi ^{125}J elektrolytisch bei einer Spannung von 2 Volt eine Stunde lang gekoppelt (56). Die so erhaltene radioaktiv markierte Globulinlösung wurde mittels Säulenchromatographie auf einer Sephadex G 75-Säule vom freien Jod getrennt, die Ausflußfraktionen in 4 ml-Portionen gesammelt und der Proteingehalt mittels UV-Absorptiometrie registriert. Parallel dazu wurde die Radioaktivität der Ausflußfraktionen bestimmt, um die Übereinstimmung zwischen Radioaktivitätsanstieg und Proteinpeak zu überprüfen.

Durch eine Kombination von Papierchromatographie und Scanner war es möglich, die Güte und Zusammensetzung der elektrolytisch markierten Globulinlösung vor und nach der Säulenchromatographie zu überprüfen. Dazu wurde ein Tropfen der Lösung vor und nach der chromatographischen Auftrennung auf Chromatographie-Papier gegeben, eine Stunde in einer gesättigten Atmosphäre von Methanol (14o ml Methanol und 6o ml Aqua dest.) als Laufmittel inkubiert und nach Trocknung mit einem Packard Radiochromatogram Scanner (Laufgeschwindigkeit 5 cm/sec, Empfindlichkeit 3 x $1o^3$ lin. Range) ausgemessen.

2.2.4. Immunologische Untersuchungsmethoden (15, 3o, 33):

a) Überwanderungselektrophorese (ÜEP) (3o):

Glasobjektträger 2 x 6,5 cm wurden mit je 3,5 ml heißer 1 %iger Agarose beschichtet und nach dem Erkalten Serum- und Antigenauftragsstellen als Lochpaare ausgestanzt (Durchmesser 4 mm, Fassungsvermögen 2o µl). Bei einer Spannung von 1o mA pro Objektträger betrug die Elektrophoresedauer zwei Stunden. Um die entstandenen Präzipitationslinien zu verdeutlichen, wurden die Präparate in 0,9 % NaCl-Lösung 24 h gewässert.

b) Immunelektrophorese (3o):

Die Glasobjektträger wurden wie oben beschichtet und Serumauftragstelle sowie Laufrinne ausgestanzt. Das zu untersuchende Serum wurde unter den oben genannten Bedingungen aufgetrennt. Anschließend erfolgte eine Immundiffusion des Antiserums aus der Laufrinne über 24 Stunden. Wässern über 24 h brachte die Präzipitation klar zum Ausdruck.

c) Immundoppeldiffusion nach Ouchterlony (3o, 33):

Eine Kunststoffschale Ø 5 cm wurde mit ca. 5 ml 1 %iger Agarose beschichtet und nach Erkalten ausgestanzt. Die Stanzstellen wurden mit der zu untersuchenden Lösung beschickt und über 24 h zur Diffusion in der feuchten Kammer stehengelassen.

d) Immunfluoreszenzmikroskopie (15):

Auf mit Silikonspray präparierten Objektträgern wurden Tropfen der Ganzzellantigensuspension zum Antrocknen gebracht. Anschließend fügte man einen Tropfen Patienten- oder Kaninchenserum in der Verdünnung 1 : 5 hinzu und inkubierte zwei Stunden in einer feuchten Kammer. Nach vorsichtigem Abspülen mit Aqua dest. wurden die Präparate mit FITC-markiertem Antikaninchen- bzw. Antihumanserum überschichtet und erneut inkubiert. Überschüssige Antikörper wurden vorsichtig abgespült und die Präparate nach Trocknung mit Ölimmersion bei einer Objektivvergrößerung von 1 : 100 und einem Okular 6,3 x in einem Zeiss Fluoreszenz-Mikroskop ausgewertet.

2.2.5. Herstellung eines intrinsisch radioaktiv markierten B- Streptokokkenantigens (3, 4, 13):

Als experimentelle Grundlage für die Herstellung eines mit

^{14}C intrinsisch markierten Polysaccharidantigens wurde die Arbeitsanleitung von Brandt et al. (13) benutzt.

2.2.6. Klinisch-chemische Untersuchungen:

a) Eiweißbestimmung nach der Biuretmethode (Testsatz Merck) (57)

b) CAF-Elektrophorese mit einem Testsatz von Serva (57)

2.2.7. Radioimmunologische Untersuchungen zum Nachweis spezifischer Antikörper gegen B-Streptokokken (3, 4, 11, 13, 28, 29, 43, 51, 63, 64):

Das Prinzip des Radioimmunassays (RIA) beruht auf einer Antigen-Antikörperreaktion in vitro, bei der Antigen oder Antikörper radioaktiv markiert sein können. Die Konzentration der zu untersuchenden Substanz verläuft zur gebundenen Substanz proportional. Nach der Natur der eingesetzten Substrate lassen sich "solid-phase RIA" und "soluble-phase RIA" unterscheiden. Wir überprüfen die Brauchbarkeit des "Sandwich-Assays" und des kompetitiven Assays. Im "Sandwichassay" laufen zwei Antigen-Antikörperreaktionen nacheinander ab. Der zu erfassende Antikörper wird in der Mitte eingeschlossen (Abb. 1 A). Die Konzentration des zu bestimmenden Antikörpers ist der Radio-aktivität des gebundenen Anti-Antikörper direkt proportional.

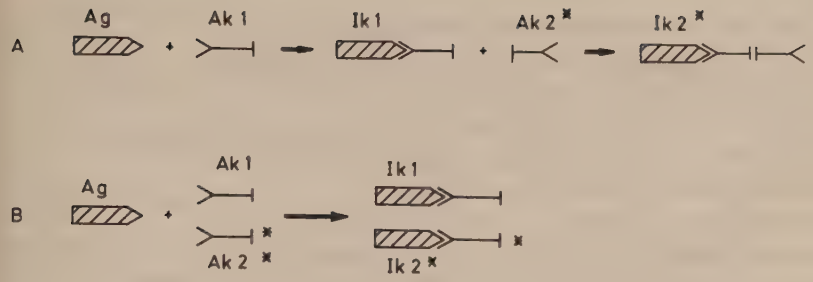

Abb. 1: Prinzip des Radioimmunassay

A) "Sandwichassay" (Ag: Antigen; AK 1: zu bestimmender Antikörper; IK 1: Immunkomplex 1; AK 2 : radioaktiv markierter Anti-Antikörper; IK 2 :radioaktiv markierter Immunkomplex)

B) Kompetitiver Assay (Abkürzungen wie unter A) außer AK 2 : radioaktiv markierter heterologer Antikörper)

Im kompetitiven Assay wird das Antigen mit gleichen, spezifischen Antikörpern inkubiert, von denen der eine bekannt und radioaktiv markiert ist, während der zu ermittelnde unmarkiert ist.
Hier ist die Konzentration des zu untersuchenden Antikörpers umgekehrt proportional zur gebundenen Radioaktivität des Kompetitors (Abb. 1 B).
In Vorversuchen erwies sich der kompetitive Radioimmunassay als besonders geeignet für den Nachweis von B-Streptokokkenantikörpern in tierischen und menschlichen Seren.

2.2.8. Kompetitiver RIA:

Als Antigen dienten hitzeinaktivierte B-Streptokokkenzellen, die, um eine bessere Bindung der Antikörper an die antigenen Zellwandpolysaccharidstrukturen zu gewährleisten, mit HCl-Pepsin-Lösung angedaut worden waren. Der markierte Antikörper bestand aus der elektrolytisch mit ^{125}J markierten Gamma-

globulinfraktion von Kaninchenhyperimmunserum. Als negative Kontrollen dienten an Stelle des nicht markierten Testserums gleiche Mengen Phosphatpuffer, Kaninchen-Normalserum, und mit B-Streptokokken absorbiertes Kaninchenserum; bei den menschlichen Serumproben ein mit B-Streptokokken absorbierter Humanserumpool.
Folgende Bedingungen wurden bei allen Ansätzen eingehalten: Inkubationszeit 24 h bei Zimmertemperatur in Polyäthylenküvetten. Mengenverhältnisse für markierte Antikörper, Testserum und Antigen je 1oo µl. Die optimalen Konzentrationen der einzelnen Bindungspartner wurden in Verdünnungsreihen der einzelnen Parameter ermittelt. Als Waschlösung diente 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,0. Durch Radioaktivitätsmessungen der Waschlösung erwies sich dreimaliges Waschen der Probe als ausreichend.
Im endgültigen Ansatz wurden 5o µl Antiserum unverdünnt und 1oo µl Antigen 1 : 1O verdünnt verwendet.Dieser Ansatz wurde aufgrund der teilweise geringen Humanserummengen weiter modifiziert auf 5o µl Antigen. Im endgültigen Verfahren beim kompetitiven RIA wurde das zu untersuchende Serum im Reaktionsgefäß mit 0,1 M Phosphatpuffer pH 0,7 (insgesamt 5o µl) verdünnt, markiertes Antiserum (25 µl unverdünnt) hinzugegeben und 5o µl Antigen 1 : 1O in 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,0, einpipettiert. Die verschlossenen Reaktionsgefässe wurden auf einem Rotationsschüttler gemischt (3o sec). Nach Inkubation über 24 h bei Zimmertemperatur und dreimaligem Waschen (je 1 ml 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,0; 45oo UPM in der Kühlzentrifuge 1o min) erfolgte die Messung im Beckman Scintillation System, später Kontron Gamma Counting System über 1 min.

3. Ergebnisse:

3.1. Prüfung der Spezifität des Kaninchen-Hyperimmunserums:

3.1.1. Überwanderungselektrophorese (ÜEP):

a) Vor der Immunisierung:

Die Kaninchenseren ergaben weder mit Ganzzell- noch mit Antiklavierantigen Präzipitationslinien, während Anti-B-Streptokokkenserum (Institut Pasteur) das Autoklavierantigen präzipitierte.

b) Nach der fünften Immunisierung:

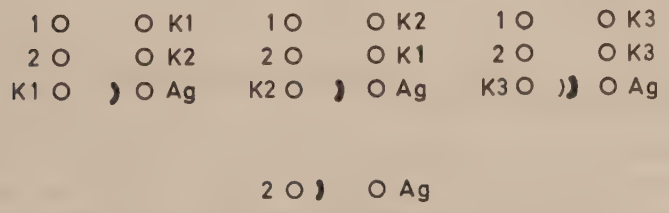

Abb. 2: Ergebnis der ÜEP nach 5 Injektionen (1: Anti-A-Streptokokkenserum; 2: Anti-B-Streptokokkenserum; K 1-3: Kaninchenhyperimmunserum (Tier 1-3); Ag: Autoklavierantigen)

Anti-A- und Anti-B-Streptokokkenserum wurde gegen Kaninchenhyperimmunserum und letztere gegen Autoklavierantigen zusammen mit einer positiven Kontrolle (Anti-B-Streptokokkenserum (Pasteur) gegen Autoklavierantigen) aufgetragen. Das Anti-B-Serum sowie die Kaninchenseren K 2 und K 3 zeigten eine Präzipitationsbande (Abb. 2).

c) 3 Tage nach der 7. Injektion:

(K 3 starb einen Tag nach der letzten Immunisierung)
Die Kaninchenseren K 1 und K 2 zeigten mit Autoklavierantigen eine Präzipitationsbande als Antikörpernachweis. Die gleichzeitig aufgetragenen Anti-A- und Anti-C-Streptokokkenseren ergaben einen negativen Befund.

d) 1o Tage nach der letzten Injektion:

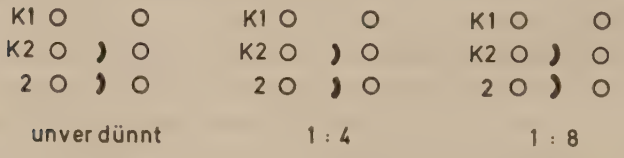

Abb. 3: Ergebnis der ÜEP nach Abschluß der Immunisierung (Abkürzungen wie in Abb. 2)

Die Kaninchenseren 1 und 2 wurden nativ, 1 : 4 und 1 : 8 verdünnt gleichzeitig mit einer positiven Kontrolle gegen Autoklavierantigen aufgetragen. Kaninchenserum 2 zeigt wie die Kontrolle mit Anti-B-Streptokokkenserum einen positiven Befund (Abb. 3).

3.1.2. Immundoppeldiffusion nach Ouchterlony:

a) Nach der 5. Injektion:

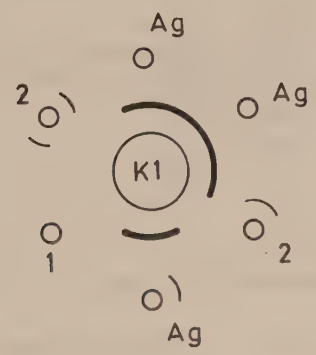

Abb. 4: Ergebnis der Immundoppeldiffusion nach 5 Injektionen (Abkürzungen wie in Abb. 2)

(Der Befund blieb nach 24 h und 48 h Inkubation gleich.) Die Kaninchenseren K 1 und K 3 wurden gegen Autoklavierantigen und Anti-A sowie Anti-B-Streptokokkenserum aufgetragen. Es ergaben sich Präzipitationslinien zwischen Kaninchenseren und Autoklavierantigen sowie Anti-B-Streptokokkenserum und Autoklavierantigen (Abb. 4).
(Das gleiche Ergebnis wurde mit K 3 erzielt.)

b) 1o Tage nach der letzten Injektion:

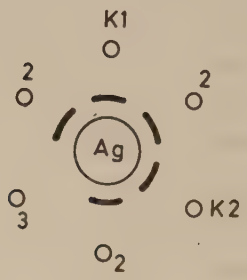

Abb. 5: Ergebnis der Immundoppeldiffusion nach Abschluß der Immunisierung
(Abkürzungen wie in Abb. 2; 3: Anti-C Streptokokkenserum)

Die Kaninchenseren K 1 und K 2 sowie Anti-B-Streptokokkenserum präzipitierten das Autoklavierantigen, während Kontrollen mit Anti-A- und Anti-C-Streptokokkenseren negativ verliefen (Abb. 5).

3.1.3. Immunelektrophorese:

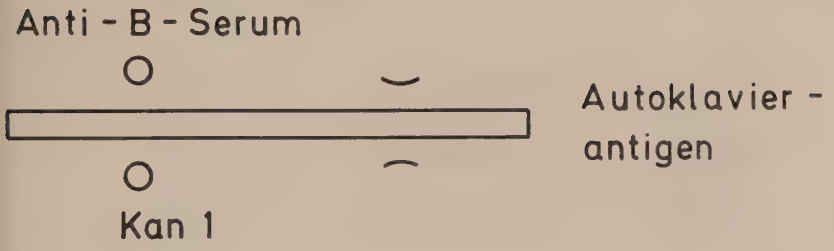

Abb. 6: Ergebnis der Immunelektrophorese von Kaninchen-Immunserum gegen Autoklavierantigen

Die Kaninchenseren K 1 und K 2 wurden nach der letzten Immunisierung gegen Autoklavierantigen aufgetragen (positive Kontrolle Anti-B-Streptokokkenserum (Institut Pasteur)). Die Seren zeigen übereinstimmende Befunde (Abb. 6).

3.1.4. Klinisch-chemische Untersuchungen:

a) Gesamteiweiß: K1 5,88 g/dl
K2 5,34 g/dl

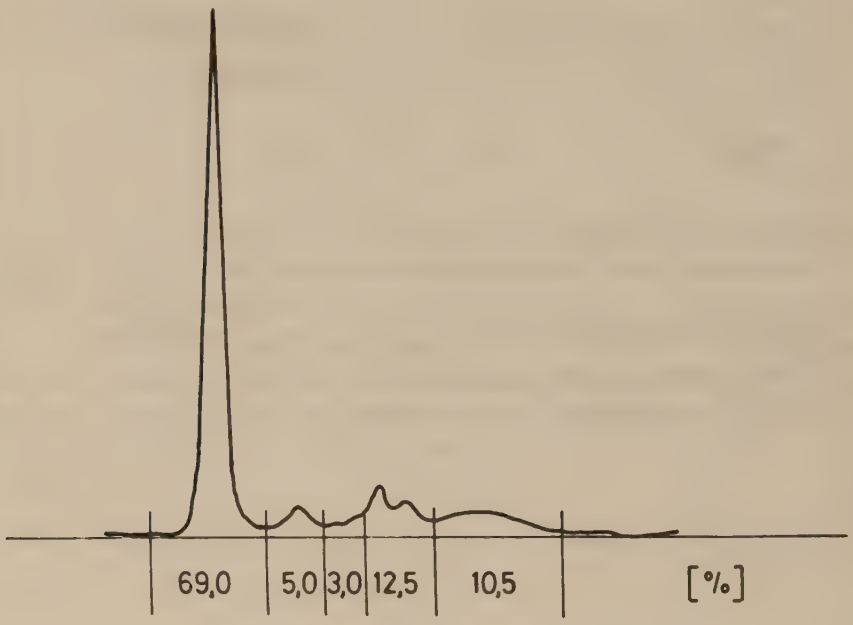

Abb. 7: Elektropherogramm nach Abschluß der Immunisierung

Das Elektropherogramm des Kaninchenserums nach abgeschlossener Immunisierung zeigt keine signifikante Vermehrung im Bereich der γ-Globuline (Abb. 7).

3.2. Reinheit und Spezifität des Anti-B-Streptokokken-Kaninchenserums nach Ammoniumsulfat-Präzipitation:

3.2.1. Immunelektrophorese

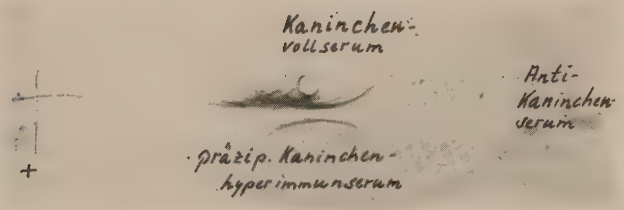

Abb. 8: Ergebnis der Immunelektrophorese des Ammoniumsulfatpräzipitates

Vollserum nicht immuner Kaninchen und das Präzipitat aus Kaninchenhyperimmunserum wurden gegen Antikaninchenserum von der Ziege aufgetragen. Das Vollserum zeigt eine normale Auftrennung, das Ammoniumsulfatpräzipitat eine Bande im Bereich der Immunglobuline (Abb. 8).

3.3. Spezifität und Reinheit der Gammaglobulinfraktionen nach der Säulenchromatographie:

3.3.1. Immunelektrophorese:

Abb. 9: Ergebnis der Immunelektrophorese der Kaninchengammaglobulinfraktion nach Säulenchromatographie

Gegen die Gammaglobulinfraktion des Kaninchenserums wurde Antikaninchenserum von der Ziege aufgetragen. Es ergab sich eine Präzipitationsbande im Bereich der Immunglobuline.

3.3.2. Eiweißbestimmung der Gammaglobulinfraktion des Kaninchenhyperimmunserums:

a) Nach Ammoniumsulfatpräzipitation und 48 h Dialyse:
1,39 g/dl

b) Nach der Säulenchromatographie:
0,02 g/dl

Der durch die Reinigungsschritte des nativen Kaninchenhyperimmunserums bis hin zur Immunglobulinfraktion bedingte Eiweißverlust und die Verdünnung machten eine Gefriertrocknung notwendig, um nach Einwaage in geringe Volumina über höher konzentrierte Lösungen zu verfügen.

3.4. Spezifität der Antigene:

Die Spezifität des Autoklavier- und Polysaccharidantigens wurde mittels der Überwanderungselektrophorese überprüft. Dabei ergaben sich gleiche Präzipitationslinien (Abb. 3 bis 9).

3.5. Säulenchromatogramm vor der radioaktiven Markierung:

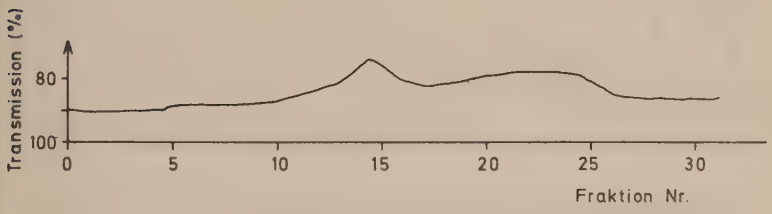

Abb. 1o: Elutionsdiagramm des Ammoniumsulfatpräzipitats

Hier findet sich ein langgezogener, zweigipfeliger Peak für die Immunglobulinfraktionen des $(NH_4)_2SO_4$-präzipitierten Kaninchenhyperimmunserums (Abb. 1o).

3.6. Markierungsprüfung der mit ^{125}J gekoppelten Antikörperfraktion:

Abb. 11: Papierchromatogramm nach ^{125}J-Markierung

Bei der Auswertung des Papierchromatogramms mittels eines Radioscanners (Abb. 11) zeigte sich von links der Radioaktivitätspeak für das freie ^{125}J und dann die Peaks der mit ^{125}J markierten Immunglobuline. Aufgetragen wurde die präzipitierte und chromatographisch gereinigte Gammaglobulinfraktion des Kaninchenhyperimmunserums nach Markierung.

3.7. Säulenchromatogramm zur Dokumentation der Trennung der ^{125}J-markierten Antikörperfraktionen von freiem ^{125}J:

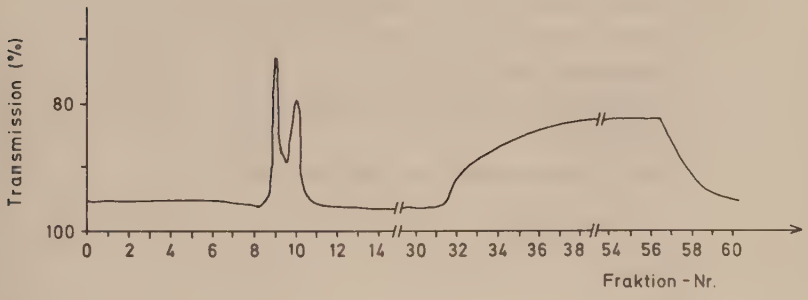

Abb. 12: Elutionsdiagramm von ^{125}J-markiertem Antikörper und freiem ^{125}J

Das Extinktionsdiagramm (Abb. 12) zeigt einen zweigipfeligen Peak für die Immunglobulinfraktion und den plateauartigen Anstieg für das freie ^{125}J. Radioaktivitätsmessungen der einzelnen Sammelfraktionen bestätigen die Zuordnung.

3.8. Antikörper gegen B-Streptokokken in Serumproben unausgewählter Schwangerer:

Der Antikörpergehalt der untersuchten Seren wurde im Radioimmunassay bei der zugehörigen Verdünnungsstufe als Validitätsquotient nach folgender Formel ausgedrückt:

$$Q = \frac{\text{cpm (negatives Humankontrollserum)}}{\text{cpm (Testserum)}}$$

Alle Werte $Q > 1{,}1$ wurden als positiv betrachtet. Die Grauzone für fragliche Werte liegt zwischen $Q = 0{,}9$ und $Q = 1{,}1$ (Symbole: + positiv; +/- Grauzone; - negativ).

Zur Befundung der Ergebnisse des indirekten Immunfluoreszenztests wurde folgende Regelung getroffen:

\+ = Bakterienzelle sichtbar (keine Fluoreszenz)
++ = Bakterienzellen mit fluoreszierenden Immunkomplexen sichtbar
+++ = massenhaft fluoreszierende Immunkomplexe sichtbar
\- = keine Bakterienzellen nachweisbar

Tab. 1: Gegenüberstellung von RIA- und IF-Messungen von Antikörpern gegen B-Streptokokken in Seren von Schwangeren

Serum-Nr.	RIA	IF	Serum-Nr.	RIA	IF
467	+/-	++	318	+/-	++/+++
465	-	-	274	+	++/+++
383	+/-	++	264	+	+++
365	+/-	+/++	258	+	+/++
352	+	+++	257	+	+
34o	-	+/++	25o	+/-	++
339	+/-	++	243	+	+
498	+/-	+/++	2o8	+	+
468	+/-	+	199	-	+/++
466	+	+	198	+/-	++
439	-	-	197	+/-	++
433	-	-	136	-	+/++
391	+	++	366	+	+++
322	+	++	393	+	++
Pos.Kan.-Serum	+	+++			
Neg.Human-Serum	-	+			
Neg.Kan.-Serum	-	+			

Zusammengefasst ergibt Tabelle 1:

Von 28 untersuchten Seren zeigen im Radioimmunassay (RIA) 12 eindeutig positive Befunde. In der Immunfluoreszenz (IF) erweisen sich 14 Seren als Antikörper-haltig, wobei hier 5 Seren fraglich sind gegenüber 1o fraglich positiven Seren im RIA. Eindeutig negativ zeigen sich im RIA 6 der untersuchten Seren, in der IF 8.

3.9. B-Streptokokken-Antikörper in Seren von Säuglingen mit B-Streptokokkenerkrankung oder -besiedlung:

Alle Serumproben von 24 Säuglingen und acht Müttern wurden zuerst 1 : 5 verdünnt, da in Vorversuchen mit dem positiven Kaninchenserum im RIA Antikörper bis zu einer Verdünnung 1 : 16 nachzuweisen waren. Um den Titerbereich einzugrenzen, wurden die Seren anschließend noch 1 : 2 und 1 : 1o verdünnt angesetzt. Jedem Ansatz waren eine positive und negative Kaninchenserumkontrolle sowie eine negative Kontrolle mit Humanserum, das mit B-Streptokokken vorher absorbiert worden war, zugeordnet.
Die Einteilung der Seren in verschiedene Untersuchungskollektive erfolgte nach klinischen und bakteriologischen Gesichtspunkten (s. auch 25). Bei sieben Kindern und einer Mutter wurde symptomlose Besiedlung mit B-Streptokokken in Nabel-, Ohr- oder Vaginalabstrichen festgestellt. Acht Säuglinge wiesen klinisch manifeste lokalisierte, durch Erregernachweis gesicherte B-Streptokokkeninfektionen auf.

Sieben Seren stammten von Neugeborenen mit Allgemeininfektionen durch B-Streptokokken vom "early-onset"-Typ und zwei von solchen mit dem "late onset"-Typ. Die Auswertung der RIA-Befunde erfolgte nach dieser Einteilung wobei, soweit möglich, auch Verlaufskontrollen und Serumbefunde der dazugehörigen Mütter aufgeführt wurden.
Die im Anhang aufgeführten Meßwerttabellen wurden zur besseren Darstellung der Befunde im Hinblick auf die B-Streptokokken-spezifische Antikörperverteilung nach folgenden Gesichtspunkten in verschiedenen graphischen Darstellungen zusammengefasst. Allen Meßreihen waren positive und negative Kontrollseren zugeordnet (Abb. 13.1 und Tab. 3).

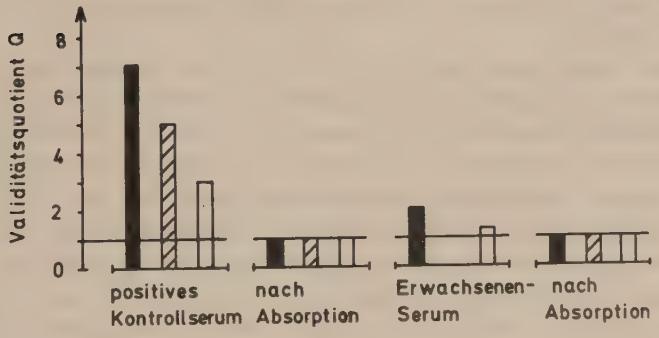

Abb. 13.1: Gehalt der Kontrollseren an B-Streptokokken-spezifischen Antikörpern in verschiedenen Verdünnungsstufen (■1 : 2, ▨1 : 4, □1 : 10) (s. Tab. 3).

Nach der beschriebenen Formel für den Validitätsquotienten Q liegt hier ein negativer Befund bei Werten $Q < 1$ vor. Abb. 13.1 zeigt das Vorliegen B-Streptokokken-spezifischer Antikörper im Kaninchenhyperimmunserum (positives Kontrollserum) in allen Verdünnungsstufen.Nach Absorption des gleichen Serums mit B-Streptokokken sind keine Antikörper mehr nachweisbar (negatives Kontrollserum). Auch das eigene Serum zeigte Antikörper mit B-Streptokokken-Spezifität, die nach Absorption nicht mehr nachweisbar waren (negatives Humanserum).

Die Antikörperbefunde in Seren von Neugeborenen und zugehörigen Müttern sind als Untersuchungskollektive von mit B-Streptokokken besiedelten (Abb. 14.1) und infizierten Neugeborenen (Abb. 15.1) sowie solchen mit dem klinischen "early"- und "late onset"-Infektionstyp dargestellt (Meßwerttabellen 1 bis 7 im Anhang).
Neben diesen Meßwerttabellen sind die Antikörperbefunde jeder Untersuchungsgruppe als graphische Darstellung aller Seren des ersten Lebenstages (Q gegen Titer) aufgetragen (Abb. 14.1; 15.1; 16.1). Weitere Abbildungen (14.2; 15.2; 16.2) zeigen die Befunde spezifischer Antikörper von Neugeborenen an verschiedenen Lebenstagen (Q gegen Lebenstage). Hier sind Verdünnungsstufen der Seren durch unterschiedliche Symbole dargestellt. In der Darstellung von Antikörperverläufen einzelner Säuglinge der jeweiligen Untersuchungsgruppen (Abb. 14.3; 15.3; 16.3) wurden die Validitätsquotienten bei der Verdünnung 1 : 2 als Antikörpermaß gewählt.

Abb. 14.1 bis 14.3 zeigen das Vorkommen spezifischer Antikörper in Seren von mit B-Streptokokken besiedelten Neugeborenen.

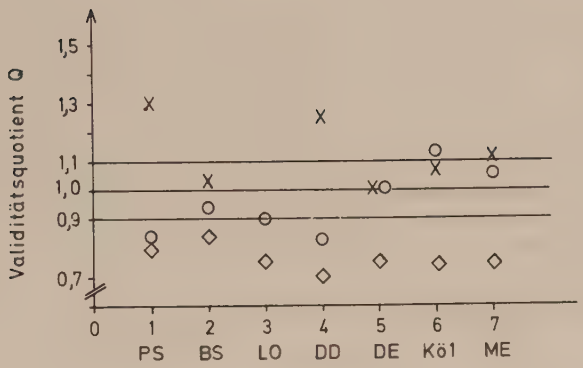

Abb. 14.1: Spezifische Antikörper bei mit B-Streptokokken besiedelten Neugeborenen am ersten Lebenstag (✕ 1 : 2; ○ 1 : 4; ◇ 1 : 10) (s. a. Tab. 3).

Von sieben untersuchten Neugeborenen besitzen am ersten Lebenstag drei Säuglinge (PS, DD und ME) spezifische Antikörper in der Verdünnung 1 : 2 (Abb. 14.1). In der Serumverdünnung 1 : 5 fand sich ein positiver Befund (KÖ 1), der jedoch als fraglich angesehen werden muß, da er bei der Serumverdünnung 1 : 2 im Grauzonenbereich zwischen Q = 0,9 und Q = 1,1 lag. Die übrigen vier Seren ergaben negative und Grauzonenwerte. In der Verdünnung 1 : 10 reagierten alle Seren eindeutig negativ.

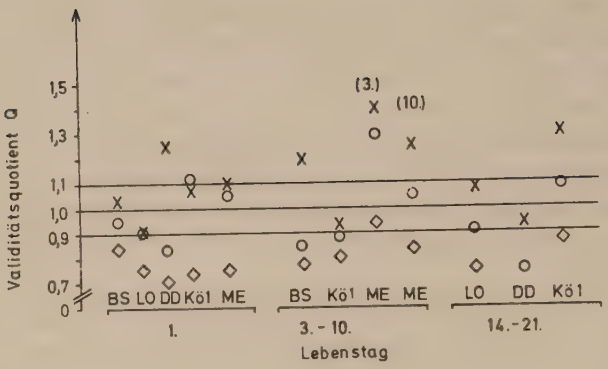

Abb. 14.2: Darstellung des Antikörpergehaltes bei mir B-Streptokokken besiedelten Neugeborenen an verschiedenen Untersuchungstagen (Symbole wie in Abb. 14.1) (s. a. Tab. 4)

Von den sieben mit B-Streptokokken besiedelten Kindern liegen bei fünf Neugeborenen Verlaufsuntersuchungen vor (Abb. 14.2). Zwei Neugeborene (DD und ME) haben am ersten Lebenstag spezifische Antikörper in einer Serumverdünnung von 1 : 2. Der positive Befund des dritten Serums mit dem Titer 1 : 5 (KÖ 1) ist fraglich, da der Q-Wert der Verdünnungsstufe 1 : 2 in der Grauzone liegt.
Am dritten bis zehnten Lebenstag sind drei der fünf Kinder untersucht worden. Ein Neugeborenes (BS) zeigt gegenüber dem ersten Lebenstag spezifische Antikörper. Ein zweites Serum(KÖ 1) liegt mit den Titerstufen im Grenzbereich von negativen und Grauzonenwerten.
Zwischen dem 14. und 21. Lebenstag liegen Befunde der übrigen zwei Neugeborenen und eines weiteren, das bereits am zehnten Tag mituntersucht wurde, vor. Ein Kind (KÖ 1) weist gegenüber dem ersten Tag jetzt spezifische Antikörper auf, ein weiteres (LO) zeigt auch nach 14 Tagen keine Antikörper.

Bei dem dritten Kind (DD) waren am ersten Tag spezifische Antikörper nachweisbar, die sich am 19. Tag nicht bestätigen ließen. Die Darstellung "KÖ 1" dieser Spalte zeigt einen positiven, spezifischen Antikörpertiter von 1 : 2 am 21. Tag gegenüber negativen Befunden vom zehnten und zweifelhaften Befunden vom ersten Tag.

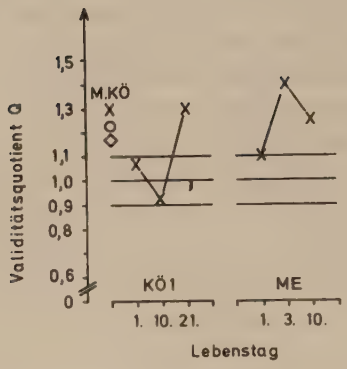

Abb. 14.3: Exemplarische Darstellung von Antikörperverläufen bei mit B-Streptokokken besiedelten Neugeborenen und einer Mutter (Serumverdünnung 1 : 2) (s. a. Tab. 4).

In Abbildung 14.3 sind Verlaufsuntersuchungen bei zwei mit B-Streptokokken besiedelten Neugeborenen zwischen dem ersten und zehnten bzw. 21. Lebenstag dargestellt. Beide Kinder besaßen in den ersten Lebenstagen spezifische Antikörper. Die Mutter des ersten Kindes (M. KÖ) zeigte bei der Geburt bereits spezifische Antikörper in allen Verdünnungsstufen, obwohl die Q-Werte des kindlichen Serums am gleichen Tag noch Werte im Grauzonenbereich aufweisen.

Abb. 15.1 bis 15.3 zeigen die Untersuchungsergebnisse von Neugeborenen mit manifesten B-Streptokokkeninfektionen. Serumproben von neun Kindern wurden am ersten Lebenstag untersucht (Abb. 15.1). Nur in einem Fall (WE) konnte ein Antikörpertiter von 1 : 2 gefunden werden. Die Mehrzahl der Befunde lag für alle drei Verdünnungsstufen im Grauzonenbereich.

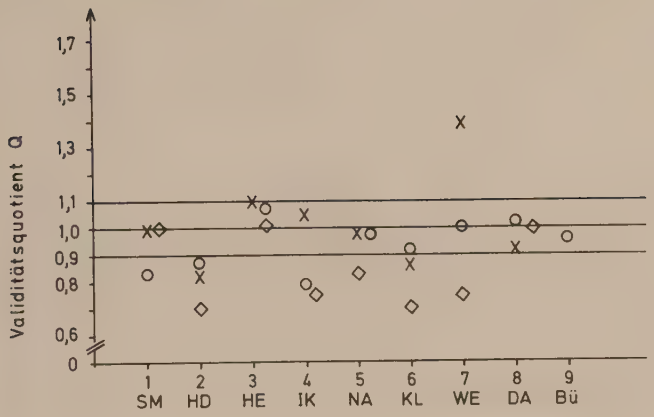

Abb. 15.1: Spezifische Antikörpertiter bei Neugeborenen mit klinisch manifester B-Streptokokkeninfektion ("early-onset"-Typ; negative Blutkultur) (Symbole wie in Abb. 14.1; vgl. Tab. 5)

Von acht dieser neun Kinder liegen Verlaufskontrollen zwischen dem ersten und 92. Lebenstag vor (Abb. 15.2). Während am ersten Lebenstag keine Probe spezifische Antikörper enthielt, ließen sich solche jedoch zwischen dem zweiten und 17. Lebenstag mit einer Titerhöhe von 1 : 2 bei fünf Kindern nachweisen. Zwischen dem 29. und 92. Lebenstag zeigten noch zwei Kinder spezifische Antikörper.

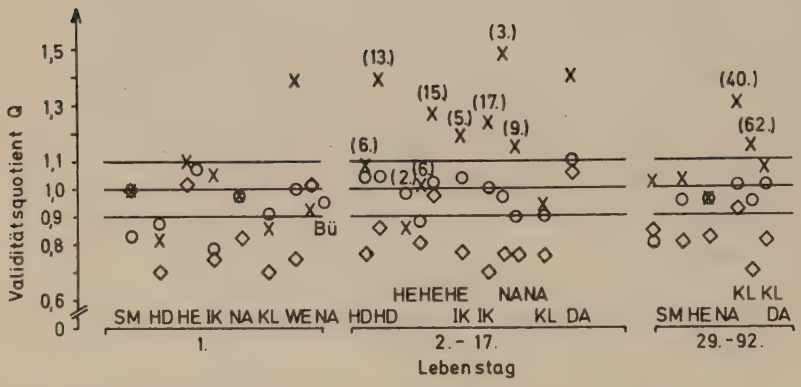

Abb. 15.2.: Darstellung des Antikörpergehaltes bei Säuglingen mit B-Streptokokkeninfektionen ("early-onset"-Typ; negative Blutkulturen) an verschiedenen Lebenstagen (Symbole wie Abb. 14.1; vgl. Tab. 5)

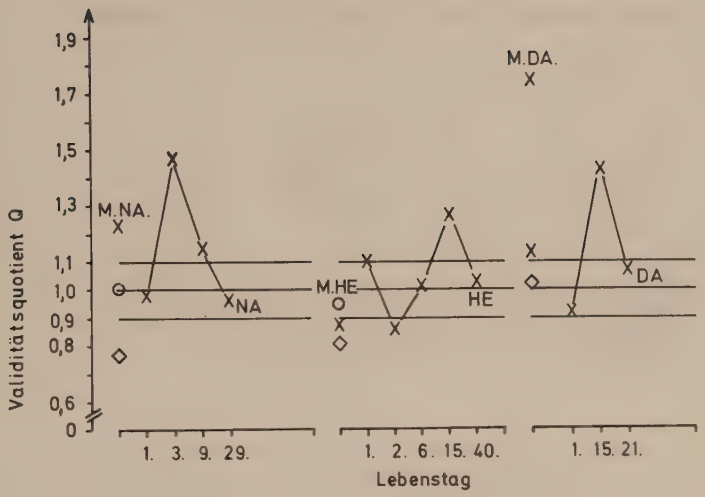

Abb. 15.3: Exemplarische Darstellung der Antikörperverläufe bei Neugeborenen mit B-Streptokokken-Infektionen ("early-onset"-Typ; negative Blutkultur) mit zugehörigen Müttern (Symbole wie in Abb. 14.1; vgl. Tab. 5; M.DA: Mutter Sgl. DA; M.NA: Mutter Sgl. NA; M.HE: Mutter Sgl. HE)

Abb. 15.3. zeigt Titerverläufe spezifischer Antikörper in den ersten Lebenstagen und -wochen bei drei Kindern aus der Untersuchungsgruppe B-Streptokokken infizierter Säuglinge. In allen drei Fällen konnte der Antikörperbefund der zugehörigen Mutter am Tag der Geburt mit dargestellt werden.
Bei den drei Neugeborenen besteht am ersten Lebenstag kein sicher positiver spezifischer Antikörperbefund, am dritten bis neunten bzw. 15. Lebenstag lassen sich jedoch Antikörper in der Verdünnung 1:2 nachweisen.
Zwei Mütter zeigen am Tag der Geburt einen deutlichen Antikörpergehalt, nicht jedoch die dritte Mutter (M.HE).

In Abb. 16.1 bis 16.3 sind die Befunde B-Streptokokken-spezifischer Antikörper bei Neugeborenen mit Infektionen vom klinischen "early"- und "late-onset"-Typ zusammengefasst.

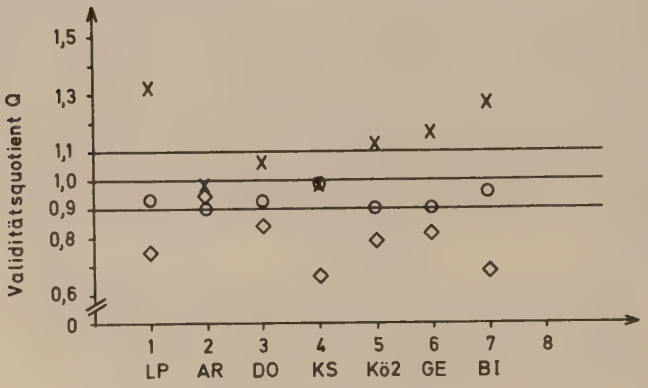

Abb. 16.1: Spezifische Antikörper bei Neugeborenen mit klinisch manifester B-Streptokokkeninfektion ("early-onset"-Typ; positive Blutkultur) am ersten Lebenstag (Symbole wie in Abb. 14.1; vgl. Tab. 6)

Am ersten Lebenstag weisen vier von sieben Neugeborenen spezifische Antikörpertiter von 1 : 2 auf. In den Verdünnungsstufen 1 : 5 und 1 : 1o sind alle Seren negativ (Abb. 16.1).

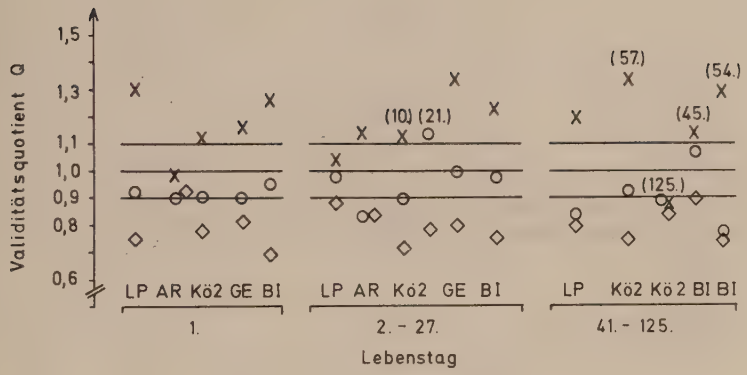

Abb. 16.2: Antikörperverteilung an verschiedenen Untersuchungstagen bei Neugeborenen mit B-Streptokokkeninfektionen ("early-onset"-Typ; positive Blutkultur) (Symbole wie in Abb. 14.1; vgl. Tab. 6)

Bei fünf dieser Kinder waren Verlaufsuntersuchungen zwischen dem 1. und 27. bzw. 92. Lebenstag möglich (Abb. 16.2). Drei Neugeborene mit positivem Antikörperbefund am ersten Lebenstag weisen auch zwischen dem zweiten und 27. Tag Antikörper auf (KÖ, GE, BI). Ein weiteres (AR) bildet sie erst innerhalb dieses Zeitraumes. Der positive Befund vom ersten Lebenstag bei zwei Kindern besteht auch noch zwischen dem 41. und 57. Lebenstag.

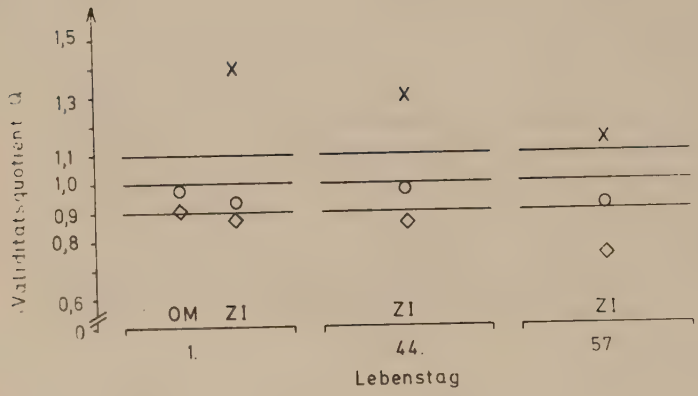

Abb. 16.3.: Verteilung spezifischer Antikörper an verschiedenen Lebenstagen bei Säuglingen mit B-Streptokokkeninfektionen vom "late onset"-Typ (Symbole wie in Abb. 14.1; vgl. Tab. 7)

Zwei der Neugeborenen mit dem "late onset"-Infektionstyp konnten untersucht werden und bei einem war eine Verlaufsstudie möglich (Abb. 16.4). Dieses zeigt am Tag der Geburt einen positiven Befund, und der Titer von 1 : 2 läßt sich auch noch am 44. und 57.Tag nachweisen.

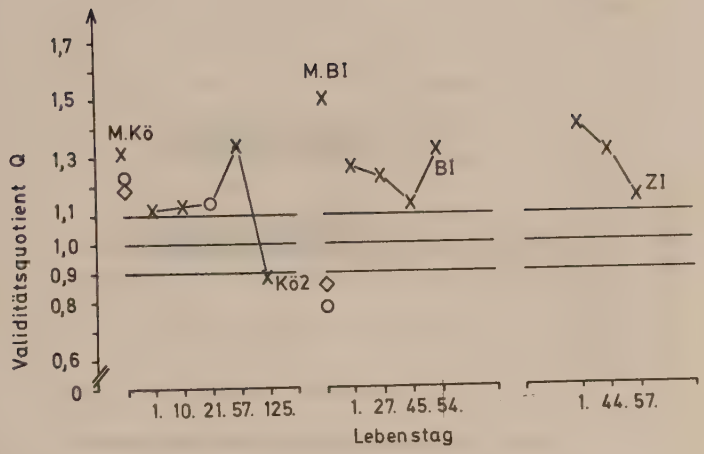

Abb. 16.4: Exemplarische Verläufe des Antikörpergehalts bei Säuglingen mit B-Streptokokkeninfektionen vom "early"- und "late onset"-Typ (positive Blutkultur) mit den zugehörigen mütterlichen Befunden (Symbole wie in Abb. 14.1.).

In Abb. 16.4 sind exemplarisch die Antikörperverläufe von zwei Neugeborenen mit dem "early-onset"- (KÖ2, BI) und einem weiteren mit dem "late onset"-Infektionstyp (ZI) dargestellt. Bei den beiden ersten Kindern bestand am ersten Lebenstag und bis zum 25. bzw. 54.Lebenstag ein Antikörpertiter von 1:2. Die zugehörigen mütterlichen Seren zeigten gleichfalls am Tag der Geburt einen positiven Antikörperbefund. Interessant ist die Beobachtung, daß der Zwillingsbruder KÖ1 (Abb. 14.1) des Säuglings KÖ2 offenbar nur besiedelt war und erst am 21. Untersuchungstag spezifische Antikörper aufwies. Im Krankheitsverlauf des Neugeborenen mit dem "late onset"-Infektionstyp zeigt sich am ersten Lebenstag ein hoher Titer, der bis zum 57.Lebenstag zwar abfällt, aber positiv bleibt.

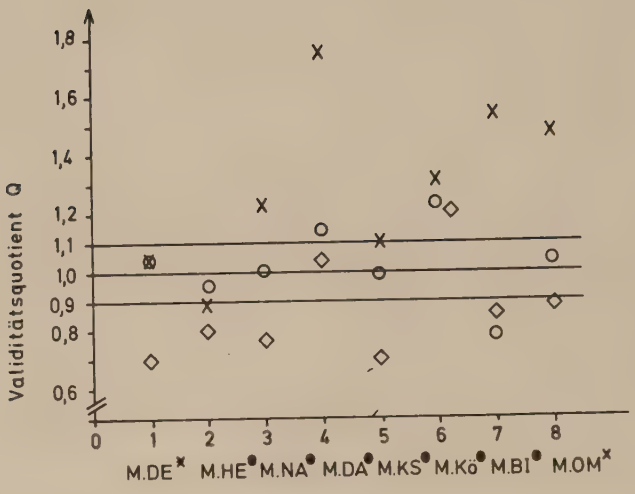

Abb. 17: Antikörperverteilung bei Müttern von mit B-Streptokokken besiedelten und infizierten (o "early-onset"; X "late onset") Neugeborenen (Symbole wie in Abb. 14.1; vgl. Tab. 3 - 6)

Abb. 17 zeigt das Vorkommen von Antikörpern mit B-Streptokokken-Spezifität in Seren von neun Müttern am Entbindungstag. Bei vier Müttern bestand in der Verdünnung von 1 : 2 ein positiver Befund, zwei weitere besaßen Antikörpertiter von 1 : 5 und eine Mutter von 1 : 1o.

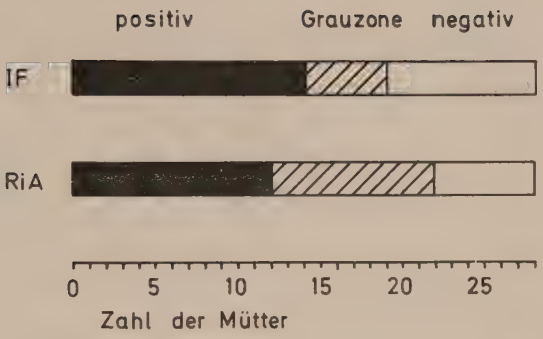

Abb. 18: Vorkommen von Antikörpern mit B-Streptokokken-Spezifität im Serum Schwangerer. Gegenüberstellung der Befunde aus RIA und IF.

Um einen Überblick über die Häufigkeit des Vorkommens von Antikörpern mit B-Streptokokken-Spezifität in der Gravidität zu bekommen, untersuchten wir 1 : 5 verdünnte Serumproben von 28 Schwangeren im Radioimmunassay (RIA) und verglichen die Ergebnisse mit denen des indirekten Immunfluoreszenztests (IF). Bei 12 (RIA) bzw. 14 (IF) Frauen ließen sich Antikörper nachweisen (Abb. 18), während ihr Vorkommen in 16 bzw. 14 Fällen fraglich oder auszuschließen war. Alle Seren wurden in einer Verdünnung 1 : 5 untersucht. Zur genauen Interpretation der Befunde ist die graphische Darstellung mit der Meßwerttabelle 1 zu vergleichen.

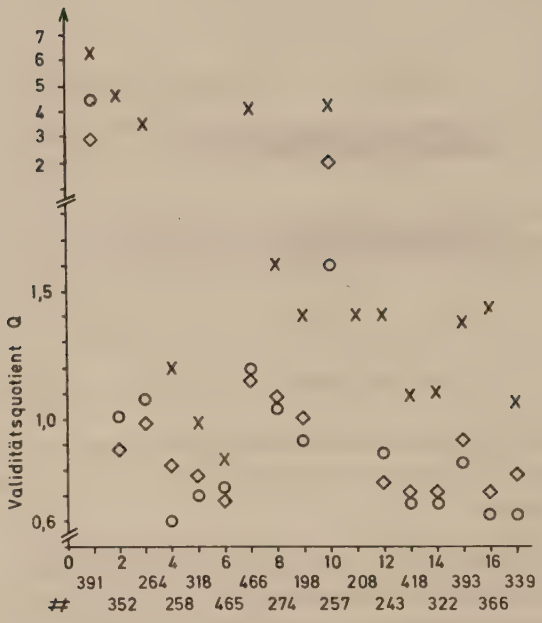

Abb. 19: B-Streptokokken-spezifische Antikörperbefunde in Seren unausgewählter Schwangerer (Symbole wie in Abb. 14.1, vgl. Tab 8)

Bei 17 weiteren Schwangeren wurde das Vorkommen von Antikörpern gegen B-Streptokokken in Verdünnungsreihen ermittelt. Drei Frauen besitzen spezifische Antikörper bis zu einer Verdünnung von 1 : 8, elf weitere haben einen Antikörper-Titer von 1 :2. Die Befunde von drei Seren sind negativ oder liegen in der Grauzone. Vergleicht man diese Befunde (siehe auch Tab. 8) mit denen der Abb. 18 oder Tab. 1, so zeigt sich eine erhebliche Durchseuchung mit B-Streptokokken bei Schwangeren.

5. DISKUSSION

Beta-hämolysierende Streptokokken der serologischen Gruppe B werden in den letzten Jahrzehnten in zunehmenden Maße als Erreger neonataler Krankheits- und Todesfälle beschrieben (z.B. 20), wobei Mortalitätsraten bis zu 94 % (Übersicht bei 25) angegeben werden. Obwohl etwa ein Viertel aller Schwangerer im letzten Drittel der Gravidität eine vaginale B-Streptokokken-Besiedlung aufweisen (8) und entsprechend viele Neugeborene während des Geburtsvorganges infiziert werden können, wird die Häufigkeit der "early-onset"- Erkrankung dennoch nur mit etwa 0,3 % der Neugeborenen (65) angegeben, was einem Verhältnis zwischen Kolonisation und Erkrankung von etwa 100 : 1 entspricht. Daher wurden immer wieder die besonderen Risikofaktoren analysiert (z.B. 60), um die gefährdeten Neugeborenen rechtzeitig zu erkennen und therapieren zu können.

Besondere Hoffnungen wurden 1976 in die Befunde von Baker und Kasper (3) gesetzt, daß offenbar nur solche Neugeborene an B-Streptokokken-Infektionen erkranken, deren Mütter keine Serumantikörper mit B-Streptokokken-Spezifität aufweisen, was sogar zur Entwicklung und klinischen Erprobung eines Impfstoffes führte (1).
Diese Befunde (3) wurden inzwischen von anderen Autoren (63) überprüft. Während Baker und Kasper (3) sowie Bernstein et al. (11) einen Radioimmunassay (RIA) mit intrinsisch markiertem Polysaccharidantigen einsetzten, verwandten Wilkinson und Mitarbeiter (63, 64) in ihrer RIA-Modifikation ^{125}J-markiertes Polysaccharidantigen zum Nachweis gruppen- oder typspezifischer Antikörper in Serumproben von Kaninchen oder Mensch. Wegen der in Vorversuchen ermittelten geringen Polysaccharid-Markierungsrate mit ^{3}H-Azetat und der aufwendigen Technik der Antigenmarkierung mit ^{125}J entschieden wir uns für die Entwicklung eines kompetitiven RIA mit ^{125}J-markier-

tem Kaninchen-Antikörper unter Einsatz eines Antigengemisches mit Gruppen- und Typenspezifität. Die Vorteile dieser Testmethodik liegen in der einfachen und schnellen Markierungstechnik und der geringen Menge radioaktiven Materials. Von Nachteil ist die relativ kurze Halbwertzeit des ^{125}J. Die Bewertung erfolgte mit Hilfe eines Validitätsquotienten im Vergleich zu einem mit B-Streptokokken absorbierten Humanserum als Negativkontrolle und erlaubte die Beurteilung "positiv", "fraglich antikörperhaltig" und "negativ", während die übrigen Autoren quantitative Antikörperbestimmungen durchführten. Der Vergleich unserer Ergebnisse ist denen der Literatur in Tabelle 2 gegenübergestellt.

Wie die Ergebnisse bei schwangeren und nichtschwangeren Erwachsenen zeigen, erwirbt der Mensch im Lauf seines Lebens immunologische Erfahrung mit B-Streptokokken, die zu teilweise wesentlich höheren Antikörperspiegeln führen als sie beim Neugeborenen gefunden werden können (4, 63). Diese Antikörper gehören vorwiegend zur IgG-Klasse (1) und sind daher plazentagängig. So fanden Baker und Kapser (2) bei vierzehn Serumpaaren aus mütterlichen und Nabelschnurproben komplette Übereinstimmung hinsichtlich des Vorkommens oder Fehlens von Antikörpern, was auch durch unsere Untersuchungen bestätigt wird. Es läge nun nahe, anzunehmen, die diaplazentare Übertragung B-Streptokokken-spezifischer Antikörper könne die neonatale B-Streptokokken-Erkrankung verhindern, was bei der relativ hohen Durchseuchung der Schwangeren auch das geringe Erkrankungsrisiko bei der häufig vorkommenden Kolonisation der Neonaten mit B-Streptokokken erklären könnte. Während Baker und Kapser (3) bei einem Kind mit "early-onset"-Infektionstyp spezifische Antikörper nachweisen konnten, gelang Wilkinson (63) dieser Nachweis in allen Fällen und darüber hinaus auch bei allen Müttern. Unsere Untersuchungsergebnisse beziehen eine Mittelstel-

Tab. 2: Ergebnisse der RIA-Untersuchungen von Neugeborenen- und Erwachsenenseren auf B-Streptokokken-Antikörper (Vergleich mit der Literatur)

Untersucher:	Baker (2,3)	Wilkinson (63)	eig. Ergebnisse
Gesamtzahl der Proben	86	4o	64
Schwangere	54* (36)	-	45 (26/12/7)
Nichtschwangere Erwachsene	-	9 (9)**	-
		3 (3)	-
Neugeborene, besiedelt	-	3 (3)	7 (3/4/0)
Mütter	-	-	1 (0/1/0)
Neugeborene, "early-onset"	8 (0)	7 (7)	18 (5/9/4)
Mütter	8 (2)	5 (5)	7 (6/0/1)
Neugeborene, "late onset"	9 (0)	-	2 (1/0/1)
Mütter	7 (0)	-	1 (1/0/0)

* darunter 43 Frauen mit B-Streptokokkenbesiedlung

** Erwachsene mit B-Streptokokkenbesiedlung

Die Zahlen in Klammern bedeuten die Anzahl der positiven Proben, bei den eigenen Ergebnissen sind die Zahlen in der Reihenfolge "positiv" / "fraglich" / "negativ" aufgeführt.

lung zwischen diesen Extremen (Tabelle 2): Der Antikörpernachweis scheint jedoch häufiger bei Kindern mit symptomloser Besiedlung als bei solchen mit manifester Erkrankung zu gelingen, so daß das Vorkommen humoraler Antikörper gegen B-Streptokokken-Antigene nicht ganz bedeutungslos erscheint, wie man nach den Untersuchungen von Wilkinson (63) meinen möchte. Gegen die alleinige oder überwiegende Bedeutung des Nestschutzes spricht jedoch die Feststellung, daß auch Neugeborene mit positivem Antikörperbefund bei Mutter und Kind nicht gegen die B-Streptokokken-Erkrankung vom "early-onset"-Typ gefeit sind. Eine weitere Beobachtung stützt die Annahme der Rolle weiterer Faktoren bei der Pathogenese der neonatalen B-Streptokokken-Infektion. Bei einem Zwillingspaar (KÖ 1 und KÖ 2 in Abbildung 14.1, 14.2, 14.3, 16.1, 16.4, 17 und Tabelle 4, 6), dessen Mutter einen positiven Antikörperbefund zeigte, war der Erstgeborene bei fraglichem Antikörperbefund nur symptomlos mit B-Streptokokken besiedelt, während der Zweitgeborene zwar einen deutlich positiven Antikörperbefund aufwies, aber an einer B-Streptokokken-Sepsis erkrankte. Ähnliche Zwillingsbeobachtungen werden von Wilkinson (63) berichtet.
Weitere Faktoren, die das Zustandekommen der neonatalen B-Streptokokken-Erkrankung fördern, können durch klinische oder experimentelle Befunde als bewiesen oder wahrscheinlich gelten. So begünstigen Unreife und früh- oder vorzeitiger Blasensprung das Angehen der Infektion (25, 60), ebenso die Verminderung oder das Fehlen chemotaktischer Faktoren, der unspezifischen Opsonisierung, einiger Komplementfraktionen, der phagozytären oder bakteriziden Granulozyten-Funktion, was teilweise im Tierversuch belegt werden konnte (Lit. bei 42).

Die bisher vorliegenden immunologischen Daten im Rahmen der neonatalen B-Streptokokken-Infektion reichen nicht

aus, um die gefährdeten Kinder frühzeitig und sicher zu erkennen. Die Bereiche der Antikörper-Konzentrationen sind so breit gestreut, daß eine Definition geschützter und empfänglicher Populationen solange nicht möglich ist, bis in größeren prospektiven Studien eine bessere Korrelation zwischen Antikörpergehalt und aktuellem klinischem Infektionsschutz gefunden wurde.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In einem eigenen kompetitiven Radioimmunassay mit gereinigtem und ^{125}J-markiertem Kaninchenantikörper gegen Gruppen- und Typantigene von Streptococcus agalactiae (B-Streptokokken) wurde das Vorkommen von Serumantikörpern mit B-Streptokokken-Spezifität bei unausgewählten Schwangeren sowie bei Neugeborenen und Säuglingen mit B-Streptokokken-Besiedlung oder -Erkrankung sowie einem Teil ihrer Mütter untersucht.

Solche Antikörper ließen sich bei 26 von 45 Schwangeren und drei von sieben mit B-Streptokokken besiedelten Kindern nachweisen. Fünf von 18 Neugeborenen mit dem "early-onset"-Infektionstyp und sechs von sieben ihrer Mütter wiesen Antikörper mit B-Streptokokken-Spezifität auf, desgleichen einer von zwei Säuglingen mit dem Typ der "late onset"-Infektion. Im Gegensatz zu der These von Baker und Kasper (3) und in Übereinstimmung mit den Befunden von Wilkinson (61) kann der Nachweis von Antikörpern gegen B-Streptokokken allein nicht zur Feststellung der Risikogruppe dienen, bei der die Kolonisation mit Streptococcus agalactiae zur häufig lebensbedrohlichen neonatalen B-Streptokokken-Erkrankung führt.

6. MESSWERTTABELLEN

ABKÜRZUNGEN UND ZEICHENERKLÄRUNG

RIA:	cpm	= counts per minute
	Q	= Validitätsquotient (Definition s. unter 3.8)
	+	= positiv ($Q > 1.1$)
	+/-	= Grauzone ($0,9 \geq Q \leq 1.1$)
	-	= negativ ($Q < 0,9$)
IF:	+	= Bakterienzelle sichtbar
	+/++	= fragliche fluoreszierende Immunkomplexe
	++	= fluoreszierende Immunkomplexe
	+++	= stark fluoreszierende Immunkomplexe
	-	= keine Zellen nachweisbar
allgemein:	X	= Serum konnte wegen zu geringer Menge nicht in dieser Verdünnung untersucht werden
	Verd.	= Verdünnung
	Bef.	= Befund

Tab. 3: Befunde der Kontrollseren im Radioimmunassay zum Nachweis von Antikörpern mit B-Streptokokken-Spezifität

Art des Serums	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Kaninchenimmun-	1:2	236	7,08	+
serum	1:5	672	5,08	+
	1:10	617	3,16	+
Kaninchenimmun-	1:2	1673	1,0	-
serum mit B-	1:5	1813	1,0	-
Streptokokken	1:10	1954	1,0	-
absorbiert				
Erwachsenenserum	1:2	886	2,47	+
nicht vorbehandelt	1:5	_x	_x	_x
	1:10	1856	1,13	+
Erwachsenenserum	1:2	2194	1,0	-
mit B-Strepto-	1:5	2071	1,0	-
kokken absorbiert	1:10	2108	1,0	-

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.PS	9.1.75	1:2	1680	1,3	+
9.1.75		1:5	3894	0,84	+
		1:10	2619	0,80	-
Sgl.BS					
11.2.75	11.2.75	1:2	2129	1,03	+/-
		1:5	3492	0,94	+/-
		1:10	1832	0,84	-
	15.2.75	1:2	1829	1,19	+
		1:5	3882	0,84	-
		1:10	1979	0,77	-
Sgl.LO	3.12.75	1:2	_x	_x	_x
3.12.75		1:5	3618	0,91	+/-
		1:10	2058	0,76	-
	17.12.75	1:2	2030	1,08	+/-
		1:5	3620	0,91	+/-
		1:10	2000	0,76	-

Tab. 4: Spezifische Antikörper bei mit B-Streptokokken besiedelten Neugeborenen und deren Müttern

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.DD 3o.12.75	6.1.76	1:2	1755	1,25	+
		1:5	352o	0,83	-
		1:10	2160	0,71	-
	25.1.76	1:2	2328	0,94	+/-
		1:5	4384	0,75	-
		1:10	3269	0,64	-
Sgl.DE 3o.8.76	3o.8.76	1:2	216o	1,01	+/-
		1:5	3253	1,01	+/-
		1:10	2o46	0,75	-
Mutter DE	3o.8.76	1:2	2060	1,04	+/-
		1:5	3144	1,04	+/-
		1:10	2193	0,70	-
Sgl.KÖ 1 13.9.76	13.9.76	1:2	2543	1,07	+/-
		1:5	2911	1,13	+
		1:10	2063	0,74	-

(Fortsetzung Tab. 4)

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.KÖ 1	23.9.76	1:2	2350	0,93	+/-
13.9.76		1:5	3344	0,89	+/-
		1:10	1862	0,82	-
	2.10.76	1:2	1686	1,3	+
		1:5	1678	1,09	+/-
		1:10	2411	0,87	-
Sgl.ME	10.11.75	1:2	1960	1,11	+
		1:5	3692	1,06	+/-
		1:10	2040	0,75	-
	13.11.75	1:2	1540	1,40	+
		1:5	1894	1,29	+
		1:10	2251	0,94	+/-
	20.11.75	1:2	1749	1,25	+
		1:5	3085	1,06	+/-
		1:10	1840	0,83	-

(Fortsetzung Tab. 4)

Tab. 5: Spezifische Antikörper bei Neugeborenen mit klinisch manifester B-Streptokokkeninfektion ("early-onset"-Typ, negative Blutkultur) und deren Müttern

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.SM 26.9.75	3o.1o.75	1:2	2210	0,99	+/-
		1:5	3938	0,83	-
		1:10	1520	1,01	+/-
	26.11.75	1:2	2150	1,02	+/-
		1:5	4o51	0,81	-
		1:10	2509	0,84	-
Sgl.HD 3o.9.75	1.10.75	1:2	2663	0,82	-
		1:5	3708	0,88	-
		1:10	2170	0,70	-
	7.10.75	1:2	2015	1,08	+/-
		1:5	3137	1,05	+/-
		1:1o	1990	0,77	-
	14.10.75	1:2	1576	1,39	+
		1:5	3131	1,05	+/-
		1:10	1774	0,86	-

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.HE 7.4.76	8.4.76	1:2	1928	1,1	+/-
		1:5	3227	1,08	+/-
		1:10	2058	1,02	+/-
	10.4.76	1:2	2531	0,86	-
		1:5	3296	0,99	+/-
		1:10	x	x	x
	14.4.76	1:2	2167	1,01	+/-
		1:5	3675	0,89	-
		1:10	1893	0,81	-
	23.4.76	1:2	1734	1,27	+
		1:5	3218	1,02	+/-
		1:10	2122	0,99	+/-
	18.5.76	1:2	2124	1,03	+/-
		1:5	3465	0,95	+/-
		1:10	1895	0,81	-

(Fortsetzung Tabelle 5)

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Mutter HE	19.5.76	1:2	2485	0,88	-
		1:5	3440	0,95	+/-
		1:10	1903	0,8	-
Sgl.IK 23.4.76	24.4.76	1:2	2070	1,05	+/-
		1:5	4156	0,79	-
		1:10	2015	0,76	-
	29.4.76	1:2	1834	1,19	+
		1:5	3156	1,04	+/-
		1:10	2691	0,78	-
	11.5.76	1:2	1482	1,23	+
		1:5	3288	1,00	+/-
		1:10	2180	0,70	-
Sgl.NA 27.4.76	27.4.76	1:2	2232	0,98	+/-
		1:5	3348	0,98	+/-
		1:10	2517	0,83	-

(Fortsetzung Tabelle 5)

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.NA	3o.4.76	1:2	1487	1,47	+
		1:5	3368	0,97	+/-
		1:10	2022	0,76	-
	6.5.76	1:2	1905	1,15	+
		1:5	3622	0,90	-
		1:10	198o	0,77	-
	26.5.76	1:2	2303	0,96	+/-
		1:5	3401	0,96	+/-
		1:10	1838	0,83	-
Mutter NA	3.6.76	1:2	1772	1,23	+
		1:5	3263	1,00	+/+
		1:1o	199o	0,77	-
Mutter LO	28.5.76	1:2	_x	_x	_x
		1:5	3220	1,02	+/-
		1:10	_x	_x	_x

(Fortsetzung Tabelle 5)

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl KL 19.11.76	19.11.76	1:2	2530	0,86	-
		1:5	3567	0,92	+/-
		1:10	2189	0,70	-
	29.11.76	1:2	2323	0,94	+/-
		1:5	3607	0,91	+/-
		1:10	2023	0,76	-
	29.12.76	1:2	1671	1,31	+
		1:5	2040	1,02	+/-
		1:10	2199	0,96	+/-
	21.1.77	1:2	1902	1,15	+
		1:5	3402	0,96	+/-
		1:10	2186	0,70	-
Sgl.WE 10.12.76	10.12.76	1:2	1570	1,39	+
		1:5	3291	1,0	+/-
		1:10	2046	0,75	-

(Fortsetzung Tabelle 5)

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.DA 30.12.77	12.1.78	1:2	2370	0,92	+/-
		1:5	3261	1,02	+/-
		1:10	2107	1,00	+/-
	27.1.78	1:2	1522	1,44	+
		1:5	2967	1,11	+
		1:10	1973	1,07	+/-
	3.2.78	1:2	2042	1,07	+/-
		1:5	3260	1,01	+/-
		1:10	1880	0,81	-
Mutter DA	17.1.78	1:2	1252	1,75	+
		1:5	1828	1,13	+
		1:10	2029	1,04	+/-
Sgl.BÜ	3.5.77	1:2	_x	_x	_x
		1:5	3408	0,96	+/-
		1:10	_x	_x	_x

(Fortsetzung Tabelle 5)

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.BÜ	13.6.77	1:2	_x	_x	_x
		1:5	3063	1,07	+/-
		1:10	_x	_x	_x

(Fortsetzung Tabelle 5)

Tab. 6: Spezifische Antikörper bei Neugeborenen mit klinisch manifester B-Streptokokkeninfektion ("early-onset"-Typ, positive Blutkultur) und deren Müttern

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.LP 25.6.75	25.6.75	1:2	1650	1,32	+
		1:5	3518	0,93	+/-
		1:10	2043	0,75	-
	16.7.75	1:2	2104	1,04	+/-
		1:5	3673	0,98	+/-
		1:10	1750	0,87	-
	6.8.75	1:2	1825	1,2	+
		1:5	3918	0,84	-
		1:10	2556	0,82	-
Sgl.AR 4.5.76	4.5.76	1:2	2219	0,98	+/-
		1:5	3629	0,9	-
		1:10	2247	0,93	+/-

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.AR	15.5.76	1:2	1912	1,14	+
		1:5	3937	0,83	-
		1:10	1858	0,84	-
Sgl. DO 12.5.76	12.5.76	1:2	2060	1,06	+/-
		1:5	3510	0,93	+/-
		1:10	1830	0,84	-
Sgl. KS 6.9.76	7.9.76	1:2	2221	0,98	+/-
		1:5	3672	0,98	+/-
		1:10	3190	0,66	-
Mutter KS	9.9.76	1:2	1990	1,10	+
		1:5	3319	0,99	+/-
		1:10	2197	0,7	-
Sgl. KÖ 2 13.9.76	13.9.76	1:2	1957	1,12	+
		1:5	3449	0,9	-
		1:10	1928	0,79	-

(Fortsetzung Tabelle 6)

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.KÖ 2	23.9.76	1:2	1930	1,13	+
		1:5	3339	0,9	-
		1:10	2150	0,71	-
	4.10.76	1:2	_x	_x	_x
		1:5	2874	1,14	+
		1:10	1940	0,79	-
	1o.11.76	1:2	1633	1,34	+
		1:5	3520	0,93	+/-
		1:10	2039	0,75	-
	18.1.77	1:2	2484	0,88	-
		1:5	3664	0,89	-
		1:10	1781	0,86	-
Mutter KÖ	16.9.76	1:2	1677	1,31	+
		1:5	1678	1,23	+
		1:10	1762	1,20	+

(Fortsetzung Tabelle 6)

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.GE 27.8.77	27.8.77	1:2	1880	1,16	+
		1:5	3659	0,9	-
		1:10	1860	0,82	-
	Sept. 77	1:2	1626	1,34	+
		1:5	3270	1,0	+/-
		1:10	1905	0,8	-
Sgl.BI 13.1.78	13.1.78	1:2	1737	1,26	+
		1:5	3410	0,96	+/-
		1:10	2209	0,69	-
	10.2.78	1:2	1780	1,23	+
		1:5	3334	0,98	+/-
		1:10	2050	0,75	-
	28.2.78	1:2	1912	1,14	+
		1:5	3208	1,08	+/-
		1:10	2341	0,90	-

(Fortsetzung Tabelle 6)

Name Geb.-Datum	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.BI	9.3.78	1:2	1660	1,32	+
		1:5	4196	0,78	-
		1:10	2040	0,75	-
Mutter BI	13.1.78	1:2	1426	1,53	+
		1:5	4218	0,78	-
		1:10	1789	0,86	-

(Fortsetzung Tabelle 6)

Tabelle 7: Spezifische Antikörper bei Säuglingen mit B-Streptokokken-infektionen vom "late-onset"-Typ und einer Mutter

Name Geb.-Dat.	Abnahmetag	Verdünnung	cpm	Q	Befund
Sgl.OM	7.6.77	1:2	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
10.5.77		1:5	3301	0,99	+/-
		1:10	2278	0,92	-
Mutter OM	7.6.77	1:2	1483	1,47	+
		1:5	3144	1,04	+/-
		1:10	1755	0,87	-
Sgl.ZI	18.12.75	1:2	1564	1,4	+
22.11.75		1:5	3488	0,94	+/-
		1:10	2356	0,89	-
	12.2.76	1:2	1668	1,31	+
		1:5	3302	0,99	+/-
		1:10	2396	0,87	-
	25.2.76	1:2	1901	1,15	+
		1:5	3555	0,92	+/-
		1:10	2037	0,75	-

Tabelle 8: B-Streptokokken-spezifische Antikörperbefunde in Seren der allgemeinen Serologie (Schwangere)

Serum-Nr.	Verdünnungsstufe	cpm	Q	Befund
391 M	1:2	768	6,3	+
	1:4	745	4,5	+
	1:8	1488	2,9	+
352 M	1:2	1053	4,6	+
	1:4	3313	1,01	+/-
	1:8	4868	0,89	+/-
264 M	1:2	1346	3,5	+
	1:4	3090	1,09	+/-
	1:8	4391	0,98	+/-
258 M	1:2	3961	1,22	+
	1:4	5105	0,6	-
	1:8	5221	0,83	-
318 M	1:2	4880	0,99	+/-
	1:4	4817	0,7	-
	1:8	5555	0,78	-

Serum-Nr.	Verdünnungsstufe	cpm	Q	Befund
465 M	1:2	5750	0,84	-
	1:4	4533	0,74	-
	1:8	6341	0,68	-
466 M	1:2	1176	4,1	+
	1:4	2723	1,24	+
	1:8	3746	1,16	+
274 M	1:2	2918	1,6	+
	1:4	3227	1,04	+/-
	1:8	3881	1,09	+/-
198 M	1:2	3330	1,4	+
	1:4	3647	0,92	+/-
	1:8	4274	1,01	+/-
257 M	1:2	1131	4,2	+
	1:4	2058	1,6	+
	1:8	2101	2,06	+

(Fortsetzung Tab. 8)

Serum-Nr.	Verdünnungsstufe	cpm	Q	Befund
208 M	1:2	3430	1,4	+
243 M	1:2	3460	1,4	+
	1:4	3850	0,87	-
	1:8	5719	0,75	-
498 M	1:2	4440	1,09	+/-
	1:4	3850	0,67	-
	1:8	6010	0,72	-
322 M	1:2	4382	1,10	+
	1:4	4980	0,67	-
	1:8	5464	0,72	-
393 M	1:2	3513	1,37	+
	1:4	4055	0,83	-
	1:8	4639	0,93	+/-
366 M	1:2	3368	1,43	+
	1:4	5459	0,61	-
	1:8	5839	0,74	-

(Fortsetzung Tabelle 8)

Serum-Nr.	Verdünnungsstufe	cpm	Q	Befund
339	1:2	4570	1,06	+/-
	1:4	5342	0,63	-
	1:8	5503	0,78	-

(Fortsetzung Tabelle 8)

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. BAKER, C.J.; EDWARDS, M.S.; KASPER, D.L.: Immunogenicity of polysaccharides from type III. Group B streptococcus. J. Clin. Invest. 61, 1107 - 1110 (1978)

2. BAKER, C.J.; KASPER, D.L.: Immunological investigation of infants with septicemia or meningitis due to group B streptococcus. J. Infect. Dis. 136, 98 -104 (1977)

3. BAKER, C.J.; KASPER, D.L.: Correlation of maternal antibody deficiency with susceptibility to neonatal group B streptococcal infection. N. Engl. J. Med. 294, 753 - 757 (1976)

4. BAKER, C.J.; KASPER, D.L.; TAGER, J.B.; PARADES, A.; ALPERT, S.; McCORMACK, W.; GOROFF, D.: Quantitative determination of antibody to capsular polysaccharide in infection with type III strains of group B streptococcus. J. Clin. Invest. 59, 810 - 818 (1977)

5. BAKER, C.J.; KASPER, D.L.; DAVIS, Ch. E.: Immunochemical characterization of the native type III polysaccharide of group B streptococcus. J. Exp. Med. 143, 258 - 270 (1976)

6. BAKER, C.J.; KASPER, D.L.; Microcapsule of type III strains of group B streptococcus: production and morphology. Infect. Immun. 13, 189 - 194 (1976)

7. BAKER, C.J.; KASPER, D.L.: Indentification of sialic acid in polysaccharide antigens of group B streptococcus. Infect. Immun. 13, 284 - 288 (1976)

8. BAKER, C.J.; BARRETT, F.F.: Transmission of group B streptococci among parturient women and their neonates. J. Pediat. 83, 919 - 925 (1973)

9. BARTON, L. L.; FEIGIN, R. D.; LINS, R.: Group B beta hemolytic streptococcal meningitis in infants. J. Pediat. 82, 719 - 723 (1973)

10. BERGQVIST, G.; HURVELL, B.; MALMBORG, A. S.; RYLANDER, M.; TUNELL, R.: Neonatal infections caused by group B streptococci. Scand. J. Infect. Dis. 3, 157 - 162 (1971)

11. BERNSTEIN, D.; KLAPPER, D. G.; KRAUSE, R. M.: Use of radioimmunoassay to determine the concentration of streptococcal group specific antibodies in rabbit antisera. J. Immunol. 114,59 - 63 (1975)

12. BRAUN, D.; GREENBLATT, J. J.; EICHMANN, K.; KRAUSE, R. M.: Factors that enhance the potency of streptococcal group specific A antisera. J. Infect. Dis. 124, 387 - 393 (1971)

13. BRANDT, B.L.; WYLE, F. A.; ARTENSTEIN, M. S.: A radioactive antigen binding assay for Neisseria meningitidis polysaccharide antibody. J. Immunol. 108, 913 - 920 (1972)

14. CHRISTIE, R.; ATKINS, N. E.; MUNCH-PETERSEN, E.: A note to a lytic phenomenon shown by group B streptococci. Aust. J. exp. med. Sci. 22, 197 - 200 (1944)

15. CROPP, B.: Serotyping of group B streptococci by slide agglutination, fluorescence microscopy and microimmunodiffusion. J. Lab. Clin. Med. 84, 594 - 603 (1974)

16. CURTIS, S.; KRAUSE, R.: Antigenic relationship between groups B und G streptococci. J. Exp. Med. 111, 629 - 637 (1974)

17. DETERMANN, M.: Gelchromatographie, eine Methode zur Stofftrennung auf Grund von Molekulargewichtsunterschieden. Angewandte Chemie 14, 635 - 644 (1964)

18. DETERMANN, M.: Stofftrennung durch Chromatographie an porösen Gelen. Chimia 23, 94 - 105 (1969)

19. EICKHOFF, Th. C.: Group B streptococci human infections: clinical considerations. In WANNAMAKER, L.W.; MATSEN, J. M. (eds.): Streptococci and streptococcal diseases, Academic Press, New York (1972)

20. EICKHOFF, T.C.; KLEIN, J. O.; DALY, A.K.; INGALL, D.: Neonatal sepsis and other infections due to group B beta hemolytic streptococci. New Engl. J. Med. 271, 1221 - 1228 (1964)

21. FEINGOLD, D. S.; STAGG, N. L.; KUNZ, L. J.: Extrarespiratory streptococcal infections, importance of the various serologic groups. New Engl. J. Med. 275, 356 - 361 (1966)

22. FERRIERI, P.; CLEARY, P. P.; SEEDS, A. E.: Epidemiology of group B streptococcal carriage in pregnant women and newborn infants. J.Med. Microbiol. 10, 103 - 114 (1977)

23. FLEURETTE, J.; FLANDROIS, J.P.; MOULIN, A.; CHASSIGNOL, S.: Caractères bactériologiques et sensibilité aux antibiotiques de 64 souches de Streptococcus agalactiae isolées en pathologie humaine. Path. Biol. 20, 457 - 462 (1972)

24. FRANCIOSI, R.; ZIMMERMANN, R.; KNOSTMANN, J. R.: Group B streptococcal neonatal and infants infections. J. Pediat. 82, 707 - 718 (1973)

25. FRANK, B.: Bakteriologische Untersuchungen und klinische Befunde bei der B-Streptokokkeninfektion des Neugeborenen und Säuglings.Inaugural-Dissertation, Bonn (1980)

26. FRANTZ, J. D., Jr.: Growth requirements of the meningococcus. J. Bact. 43. 757 - 781 (1942)

27. FRY, R. M.: Fatal infections by hemolytic streptococcus group B. Lancet 1, 199 - 201 (1938)

28. GOTTSCHLICH, E.: A simplification of radioactive antigen binding assay by a double label technique. J. Immunol. 107, 910 - 911 (1971)

29. GOTTSCHLICH, E.; LIU, T. Y.; ARTENSTEIN, M. S.: Human immunity to the meningococcus III. J. Exp. Med. 129, 1349 - 1365 (1969)

30. GÖTZ, M.: Immunologische Plasmaproteindiagnostik, Walter de Gruyter, Berlin (1973)

31. GRANATH, K.; FLODIN, P.: Fractionation of polysaccharides by gel filtration. Research Division, Pharmacia, Uppsala, Sweden

32. HAMMERSEN, G.; BARTHOLOME, K.; OPPERMANN, H.C.; WILLE,L.; LUTZ, P.: Group B streptococci a threat to the newborn. Europ. J. Pediat. 126, 189 - 197 (1977)

33. HARREL, W.K.; GEORGE, J. R.: Quantitative Measurement of precipitation antibodies and standardization of streptococcus group B antisera by the reverse radial immunodiffusion technique. Bull. World Health Org. 51, 245 - 248 (1974)

34. HEIDELBERGER, M.; DAVIE, J.; KRAUSE, R.: Cross reactions of the group specific polysaccharides of streptococcal groups B und G and pneumococcal sera with especial reference to Type 23 and its determinants. J. Immunol. 99, 794 - 796 (1976)

35. HEY, D.J.; HALL, R. T.; BURRY, W. F.; THURN, A. W.: Neonatal infections caused by group B streptococci. Am. J. Obst. Gyn. 116, 43- 47 (1972)

36. HOOD, M.; JANNEY, A.; DAMERON, G.: Beta hemolytic streptococcus group B associated with problems of the perinatal period. Am. J. Obst. Gyn. 82, 809 - 818 (1961)

37. HORN, K. A.; MEYER, W.T.; WYRICK, B. L.; ZIMMERMANN, R. A.: Group B streptococcal neonatal infection. J. Amer. med. Ass. 230, 1165 - 1167 (1974)

38. HOWARD, J. B.; McCRACKEN, G. H.: The spectrum of group B streptococcal infections in infancy. Amer. J. Dis. Child. 128, 815 - 818

39. KLESIUS, Ph.; ZIMMERMANN, R.A.; MATHEWS, J. H.; KUSHAK, D.: Cellular and humoral immune response to group B streptococci. J. Pediat. 83, 926 - 932 (1973)

40. KRAUSE, R.: Rabbit antibodies to streptococcal carbohydrates. Adv. Immun. 12, 12 - 37 (1970)

41. KRAUSE, R.: The streptoccal cell: relationship of structure to function and pathogenesis, in: WANNAMAKER, L. W.; MATSEN, J. M. (eds.): Streptococci and streptococcal diseases, Academic Press, New York (1972)

42. KRETSCHMER, R. R.; GOTOFF, S. P.: Immunological aspects of group B streptococcal infections. Infection 6, 146 - 148 (1978)

43. KVITTINGEN, J.: Beta-hemolytic streptococcus group B causing neonatal meningitis. Acta path. Microbiol. Scand. 74, 143 - 144 (1968)

44. KWAPINSKI, T.: Methodology of immunochemical and immunological research, Wiley Interscience, New York (1972)

45. LANCEFIELD, R.: Cellular antigens of group B streptococcus in WANNAMAKER, L. W.; MATSEN, J. M. (eds.): Streptococci and streptococcal diseases, Academic Press, New York (1972)

46. LANCEFIELD, R.: Type specific polysaccharide antigens of group B streptococci. J. Hyg. Camb. 64, 191 - 203 (1966)

47. LLOYD, D. J.; REID, T. M. S.: Group B streptococcal infection in the newborn.Acta paediat. Scand 65, 585 - 591 (1976)

48. McQUILLEN, M.: Biochemistry of bacterial growth, Mandelstamm, McQuillen (eds.). Scientific Publications, Oxford (1968)

49. MANNIK, M.; BARINGER, J. R.; STOKES, J.: Infections due to group B beta hemolytic streptococci. Report of three cases and review of the literature. N. Engl. Med. 266, 910 - 913 (1962)

50. MÜLLER, G.: Die Typisierung der Streptokokken-Gruppe B. 1. Mitteilung: Bedeutung der Antigenstruktur und Typen der B-Streptokokken. Arch. exp. vet. Med. 21, 43 (1967)

51. NIELSEN, K. H.; RARRAT, D.; WHITE, R. G.: Quantitation of antibody to particular antigens using a radiolabelled antiimmunoglobulin antibody in farmers lung syndrome. J. Immunol. Meth. 3, 301 - 314 (1973)

52. NIELSEN, M.; MULLER, H. E.; SCHNEIDER, J.: B-Streptokokkeninfektionen. Zur Pathogenität der B-Streptokokken in Perinatal- und Neonatalperiode. Diagnose und Therapie. Fortschr. Med. 91, 986 - 992 (1973)

53. N.N.: Summary of the workshop on perinatal infections due to group B streptococcus. J. Infect. Dis. 136, 137 - 152 (1977)

54. N.N.: Group B streptococci: a serious threat to the neonate. Amer. med. Ass. 230, 1177 - 1178 (1974)

55. RANTZ, L. A.; KIRBY, W. M. M.: Serological and biological classification of hemolytic and non hemolytic streptococci from human sources. J. Infect. Dis. 71, 61 - 68 (1942)

56. REID, T. M. S.: Emergence of group B streptococci in obstetric and perinatal infections. Brit. Med. J. 2, 533 - 536 (1975)

57. RICK, W.: Klinische Chemie und Mikroskopie. Springer, Berlin, New York (1974)

58. ROSAS, U.: Labelling of human fibrinogen with ^{131}J by electrolytic iodination. Biochem. Biophys. Acta 86, 519 - 526 (1964)

59. SIDIROPOULOS, D.; MURALT, G. v.; MOSER, R.; STOCKMANN, R.: Früherfassung von Neugeboreneninfektionen durch Magensaftzytologie in : DUDENHAUSEN, J.W.; SALING, E.; SCHMIDT, E. (eds) Perinatale Medizin 6, 336 - 340, Thieme, Stuttgart (1975)

60. STEWARDSON-KRIEGER, P.B.; GOTOFF, S.P.: Risk factors in early-onset neonatal group B streptococcal infections. Infection 6, 50 - 53 (1978)

61. WILKINSON, H.: Immunochemistry of purified antigens of group B streptococci types I a, I b, I c. Infect. Immun. 11, 845 - 852 (1975)

62. WILKINSON, H.: Detection of group B streptococcal antibodies in human sera by radioimmunoassay. Concentrations of type specific antibodies in sera of adults and infants infected with group B streptococci. J.Clin. Microbiol. 7, 194 - 201 (1978)

63. WILKINSON, H.; EAGON, R. G.: Type specific antigens of group B type I c streptococci. Infect. Immun. 4, 596 - 604 (1971)

64. YOW, M.: Epidemiology of group B streptococcal infections in: KRUGMAN, S.; GERSHON, A.A. (eds.): Infections of the fetus and the newborn infant, Alan R. Liss. Inc. New York, 159 - 166 (1975)

Herrn Dr. med. Marklein und Herrn Prof. Dr. Brandis danke ich für die Überlassung des Themas und für ihre Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Winkler und Frau cand. med. O. Genzel Boroviczeny (Institut für Nuklearmedizin der Universität Bonn) sei für die Unterweisung im Verfahren der radioaktiven Proteinmarkierung gedankt.

8. LEBENSLAUF

Am 28. Februar 1952 wurde ich als Sohn des Journalisten Karl Ricklef Frey und seiner Ehefrau Maria Frey, geborene Peschke, in Friedberg/Hessen geboren.

Von 1958 bis 1962 besuchte ich die evangelische Grundschule in Bad Godesberg-Mehlem und anschließend das Neusprachlich-Naturwissenschaftliche Heinrich-Hertz-Gymnasium. Dort legte ich im Mai 1971 meine Reifeprüfung ab.

1969 bis 1970 besuchte ich als AFS Austauschschüler die Wylie E. Groves High School in Birmingham, Michigan, USA, legte dort die High School Graduation mit Auszeichnung ab und erwarb die Zugangsberechtigung zu allen amerikanischen Colleges ohne Aufnahmeprüfung.

Im Wintersemester 1971/72 begann ich das Studium der Chemie an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität und legte dort durch Sondererlaß des Kultusministers 1973 die naturwissenschaftliche Vorprüfung für Ärzte als stud. rer. nat. ab. Im Sommersemester 1974 erhielt ich die Zulassung zum Studium der Medizin an der Universität Bonn unter Anerkennung von zwei Semestern.
1975 legte ich die ärztliche Vorprüfung, 1977 den ersten Teil, 1978 den zweiten und 1980 den dritten Teil der ärztlichen Prüfung ab.
Am 9. Mai 1980 erhielt ich die Approbation als Arzt.